

PCT

ORGANISATION MONDIALE DE LA PROPRIÉTÉ INTELLECTUELLE
Bureau international



DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITE DE COOPERATION EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(51) Classification internationale des brevets ⁴ : B01D 11/02	A1	(11) Numéro de publication internationale: WO 89/09639 (43) Date de publication internationale: 19 octobre 1989 (19.10.89)
<p>(21) Numéro de la demande internationale: PCT/FR89/00158</p> <p>(22) Date de dépôt international: 6 avril 1989 (06.04.89)</p> <p>(30) Données relatives à la priorité: 88/04765 11 avril 1988 (11.04.88) FR</p> <p>(71) Déposant (pour tous les Etats désignés sauf US): INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE (I.N.R.A.) [FR/FR]; 147, rue de l'Université, F-75341 Paris Cédex 07 (FR).</p> <p>(72) Inventeurs; et (75) Inventeurs/Déposants (US seulement) : ADDA, Jacques [FR/FR]; 6, rue du Maréchal-Joffre, F-78000 Versailles (FR). LORNE, Jean-Luc [FR/FR]; 7, rue Martre, F-92110 Clichy (FR).</p> <p>(74) Mandataire: PHELIP, Bruno; Cabinet Harlé & Phélip, 21, rue de la Rochefoucauld, F-75009 Paris (FR).</p>		<p>(81) Etats désignés: AT (brevet européen), BE (brevet européen), CH (brevet européen), DE (brevet européen), FR (brevet européen), GB (brevet européen), IT (brevet européen), JP, LU (brevet européen), NL (brevet européen), SE (brevet européen), US.</p> <p>Publiée <i>Avec rapport de recherche internationale.</i></p>
<p>(54) Title: METHOD FOR EXTRACTING VOLATILE COMPOUNDS WITH SUPERCRITICAL CARBON DIOXIDE, AND COMPOUNDS SO OBTAINED</p> <p>(54) Titre: PROCÉDE D'EXTRACTION AU DIOXYDE DE CARBONE SUPERCRITIQUE DE COMPOSES VOLATILES, ET COMPOSES OBTENUS</p> <p>(57) Abstract</p> <p>In the method disclosed, supercritical CO₂ gas is percolated through the starting material and becomes laden with extractable compounds. When the percolation pressure reaches a predetermined value, the pressure in the percolation medium is reduced by bringing said medium into a separation region where the volatile compounds are trapped in the dry ice formed. The compounds are recovered in aqueous solution after sublimation of the CO₂. According to the invention, the extraction is carried out in the separation region in the presence of a trapping medium capable of retaining the volatile compounds, advantageously a medium sparingly soluble in liquid or supercritical CO₂ and capable of dissolving the volatile compounds (glycerol or edible oil) or of complexing them (cyclodextrins). The starting material chosen has a lipid content which is not excessively high (in particular, fruits and derived products). The trapping medium which retains the volatile compounds and the latter, after separation from said medium, are useful as aromas.</p> <p>(57) Abrégé</p> <p>Dans ce procédé, on conduit une percolation du gaz supercritique à travers le matériel de départ, le CO₂ se chargeant en composés extractibles, puis lorsque la pression de percolation atteint une valeur prédéterminée, on effectue une détente du milieu de percolation, en amenant ce dernier dans une zone de séparation où les composés volatiles sont piégés dans la carboglace formée, ces composés étant récupérés en solution aqueuse, après sublimation du CO₂. Selon l'invention, l'extraction est conduite, dans la zone de séparation, en présence d'un milieu de piégeage apte à retenir les composés volatiles, avantageusement un milieu très peu soluble dans le CO₂ liquide ou supercritique et ayant une aptitude à dissoudre les composés volatiles (glycérol ou huile alimentaire) ou à complexer ceux-ci (cyclodextrines). Le matériel de départ choisi présente une teneur en lipides qui n'est pas excessivement élevée (notamment, fruits et produits dérivés). Le milieu de piégeage ayant retenu les composés volatiles et ces derniers, après séparation dudit milieu, sont utiles comme arômes.</p>		

BEST AVAILABLE COPY

UNIQUEMENT A TITRE D'INFORMATION

Codes utilisés pour identifier les Etats parties au PCT, sur les pages de couverture des brochures publiant des demandes internationales en vertu du PCT.

AT Autriche
AU Australie
BB Barbade
BE Belgique
BG Bulgarie
BJ Bénin
BR Brésil
CF République Centrafricaine
CG Congo
CH Suisse
CM Cameroun
DE Allemagne, République fédérale d'
DK Danemark
FI Finlande

FR France
GA Gabon
GB Royaume-Uni
HU Hongrie
IT Italie
JP Japon
KP République populaire démocratique
de Corée
KR République de Corée
LI Liechtenstein
LK Sri Lanka
LU Luxembourg
MC Monaco
MG Madagascar

ML Mali
MR Mauritanie
MW Malawi
NL Pays-Bas
NO Norvège
RO Roumanie
SD Soudan
SE Suède
SN Sénégal
SU Union soviétique
TD Tchad
TG Togo
US Etats-Unis d'Amérique

PROCEDE D'EXTRACTION AU DIOXYDE DE CARBONE SUPERCRITIQUE DE COMPOSES VOLATILS, ET COMPOSES OBTENUS.

La présente invention porte sur un procédé perfectionné d'extraction au dioxyde de carbone de composés volatils, ainsi que sur les composés volatils obtenus par ce procédé.

De façon classique, les deux méthodes physico-chimiques les plus importantes pour l'extraction de substances sont la distillation et l'utilisation de solvants.

On sait que l'inconvénient de la distillation est que les mélanges de substances à séparer doivent être chauffés d'autant plus fortement que la tension de vapeur des corps à séparer est plus basse. La distillation atteint ses limites lorsque les substances ne sont plus thermiquement stables. La mise en oeuvre du vide élargit certes le champ d'application de ce procédé de séparation, mais seulement dans un intervalle d'ébullition supplémentaire d'environ 100 à 150°C.

L'extraction par solvants ne peut être utilisée que de façon limitative, car le choix du ou des solvants appropriés présente souvent des difficultés, ou bien il n'existe absolument aucun solvant convenable. Cette méthode atteint ses limites là où les propriétés de solubilité des constituants du mélange à séparer sont tellement voisines que l'on ne peut plus obtenir un effet séparateur efficace. La présence de solvants résiduels en quantité souvent non négligeable, voire importante, dans les extraits, donc des produits finis parfumés ou alimentaires, a provoqué chez les consommateurs une prise de conscience du danger de tels extraits, d'où des réglementations nationales et internationales de plus en plus restrictives d'emploi de certains solvants.

Tous ces problèmes justifient l'emploi des fluides supercritiques, ceux-ci offrant la plupart des avantages recherchés.

FEUILLE DE REMPLACEMENT

On sait qu'un gaz est à l'état supercritique lorsqu'il se trouve à une température et à une pression supérieures à celles de son point critique (31°C et 73×10^5 Pa pour le CO_2) ; cet état, fluide, n'est ni l'état
5 liquide, ni l'état gazeux ; son pouvoir solvant dépend beaucoup de la température et de la pression auxquelles il se trouve.

L'extraction par le CO_2 supercritique est une technique aujourd'hui bien établie, qui peut être appliquée
10 avec succès à la récupération de produits volatils responsables de l'arôme. Ainsi, l'extraction s'effectue par percolation du gaz supercritique à travers le matériel de départ, placé sous une forme appropriée, à la suite de quoi la séparation des composés extraits est réalisée, de
15 préférence, par simple diminution de la pression du mélange de percolation, jusqu'à une pression inférieure à la pression critique du CO_2 , de préférence, entre 45 et 57×10^5 Pa. On peut, en outre, abaisser la température à une valeur inférieure à la température critique du CO_2 ; la
20 température, dans les séparateurs, est, par exemple, comprise entre +10°C et +25°C au maximum, alors que la pression ne dépasse généralement pas 64×10^5 Pa.

Un tel procédé d'extraction est rapide. Malheureusement, il se produit des pertes en composés les
25 plus volatils, ou les plus polaires, lesquels sont, soit perdus à la détente, lorsque l'appareil est ramené à pression atmosphérique, soit perdus lors de l'évaporation de la neige carbonique qui s'est formée à la détente, soit non récupérés dans le séparateur du fait d'une trop grande
30 solubilité dans le CO_2 liquide ou supercritique

Jusqu'ici, diverses techniques ont été proposées pour augmenter la récupération de ces composés : modification de la taille et de la géométrie du séparateur ou barbotage dans un solvant du CO_2 qui se dégage lors de
35 l'évaporation de la neige carbonique. Cependant, ces techniques n'apportent pas d'amélioration suffisante.

La présente invention vient apporter une solution à ce problème. A cet effet, il est proposé, selon l'invention, d'ajouter, dans le séparateur d'un extracteur au dioxyde de carbone supercritique, un milieu de piégeage approprié.

5 La présente invention a donc pour objet un procédé d'extraction au dioxyde de carbone supercritique des composés volatils d'un matériel de départ, suivant lequel on conduit une percolation du gaz supercritique à travers ledit
10 matériel de départ, le dioxyde de carbone se chargeant en composés extractibles, puis lorsque la pression de percolation atteint une valeur prédéterminée, on effectue une détente du milieu de percolation, en amenant ce dernier dans une zone de séparation dans laquelle les composés
15 volatils sont piégés dans la carboglace formée, les composés volatils étant récupérés en solution aqueuse, après sublimation du CO_2 , caractérisé par le fait que l'extraction est conduite, dans la zone de séparation, en présence d'un milieu de piégeage, lequel est apte à retenir lesdits
20 composés volatils.

On choisit notamment un milieu de piégeage très peu soluble dans le CO_2 liquide ou supercritique et ayant une aptitude à dissoudre ou à complexer les composés volatils du matériel de départ.

25 Par ailleurs, on choisit avantageusement un milieu de piégeage directement utilisable dans le domaine agro-alimentaire. Il en résulte que la combinaison : milieu de piégeage/composés volatils pourra être utilisée directement, comme arômes, notamment en industrie agro-alimentaire. Il
30 est également possible d'isoler les composés volatils, par des techniques connues, par exemple, par extraction par solvants ou par distillation.

A titre d'exemples de milieu de piégeage selon l'invention, on peut citer le glycérol, les huiles
35 alimentaires, de préférence au goût neutre, comme l'huile d'arachide, de tournesol, de colza, de maïs et similaires.

FEUILLE DE REMPLACEMENT

et les cyclodextrines, comme la β -cyclodextrine. Ces milieux se sont révélés, chacun avec sa spécificité, capables d'améliorer la récupération des composés volatils.

5 Le glycérol, substance non toxique, est apte à dissoudre de nombreuses molécules organiques, dont celles responsables des arômes. En outre, l'invention tire profit de la propriété particulière du glycérol de se trouver en surfusion, et, par conséquent, de rester liquide, même aux températures très basses d'extraction mises en jeu avec le
10 CO_2 supercritique.

Les β -cyclodextrines, mises en solution, précipitent sous forme de complexes non volatils, avec de nombreuses molécules dont celles des arômes, et cette propriété est ici mise à profit pour préparer des poudres
15 stables (envers l'évaporation et l'oxydation), lesquelles peuvent ensuite être utilisées dans les préparations alimentaires.

Comme matériel de départ, on peut mentionner les matériels contenant des produits volatils et dont la teneur
20 en lipides n'est pas excessivement élevée, comme c'est le cas notamment des fruits et des boissons.

L'invention est applicable avec le plus d'avantages aux fruits et aux produits dérivés, tels que les jus de fruits et les boissons fermentées ainsi qu'aux
25 matériels végétaux non gras, et contenant des huiles essentielles, c'est-à-dire à l'exclusion des produits oléagineux.

Parmi les fruits, le procédé de l'invention s'applique avantageusement aux petits fruits, tels que
30 fraise, framboise, cerise, cassis, les fruits tropicaux comme la mangue, le fruit de la passion, la papaye, le kiwi, et similaires.

L'invention peut également être utilisée pour l'extraction des produits volatils contenus dans des fleurs,
35 telles que lilas, géranium, lavande, rose, ainsi que dans des plantes aromatiques, telles que estragon, cerfeuil, aneth, etc.

FEUILLE DE REMPLACEMENT

Conformément à une autre caractéristique du procédé conforme à la présente invention, on introduit le milieu de piégeage dans la zone de séparation en une proportion déterminée par rapport au matériel de départ traité. Cette plage doit être adaptée à la nature du matériel de départ traité et au milieu de piégeage choisi. Ainsi, dans le cas des huiles alimentaires ou du glycérol, la gamme à utiliser peut varier de 1 à 10% en poids par rapport au matériel de départ, et, dans le cas des cyclodextrines, on peut préconiser une plage de 0,05 à 0,5% en poids par rapport au matériel de départ. Par ailleurs, l'utilisation de proportions plus importantes de milieu de piégeage reste techniquement possible, mais elle conduit à des produits moins concentrés, ce qui, en règle générale, est moins souhaité.

La présente invention porte également sur le milieu de piégeage ayant retenu les composés volatils, tel qu'il est obtenu par le procédé qui vient d'être défini, sur les composés volatils séparés de ce milieu, et sur l'application de la combinaison : milieu de piégeage/ composés volatils, et des composés volatils séparés, en tant qu'arômes, notamment en industrie agro-alimentaire.

La présente invention sera maintenant décrite plus en détail, en ce qui concerne l'appareillage que l'on peut utiliser, les techniques d'extraction et de séparation des composés volatils. Des exemples et exemples comparatifs sont également présentés pour mieux illustrer les résultats et avantages que la présente invention permet d'obtenir. Dans cette partie de la description, il est fait référence au dessin annexé, sur lequel :

- la figure 1 est une représentation schématisée d'un appareil d'extraction que l'on peut utiliser pour la mise en oeuvre du procédé conforme à la présente invention ;
- la figure 2 représente le montage utilisé pour le barbotage de la carboglace lors de la sublimation ;

FEUILLE DE REMPLACEMENT

- les figures 3 et 4 représentent les montages utilisés pour les distillations respectivement sous vide primaire et sous vide secondaire, dans le cas des extractions menées en présence d'huile dans le séparateur.
- les figures 5 (décomposée en Fig 5a, 5b, 5c, 5d et 5e) et 6 à 10 représentent différents diagrammes ou courbes obtenus dans les expérimentations qui ont été conduites.

I - APPAREILLAGE ET TECHNIQUES D'EXTRACTION

On utilise un appareil d'extraction classique, du type de ceux commercialisés, dont le schéma est représenté sur la Figure 1. La légende de ce schéma est la suivante :

B : bouteille de CO_2

E : extracteur

S : séparateur

P_1 : pompe à CO_2

P_2 : pompe à liquide

T_1 : réchauffeur

T_2 : réfrigérant

T_3 : réchauffeur

V_{12} : vanne de décharge

V_{11} : vanne de sortie de liquide

PR : mesure de pression

TR : mesure de température

FR : mesure de débit

PKC : mesure de pression commandant la vanne de décharge

Les autres vannes sont numérotées 1 à 11.

Un filtre à charbon actif est placé à l'entrée de l'appareil d'extraction de façon à piéger les impuretés contenues dans le CO_2 .

Le matériel de départ est placé dans l'extracteur E qui est maintenu à la température voulue tout au long de l'extraction par une circulation d'eau dans un chemisage.

Toute l'installation est remplie de CO_2 en une quantité suffisante pour que la pression dans l'extracteur atteigne la pression voulue au départ, grâce à la pompe P_1 .

FEUILLE DE REMPLACEMENT

L'anhydride carbonique utilisé est stocké à l'état liquide dans la bouteille B. Le CO_2 présent dans le séparateur S doit se trouver à une température et une pression d'équilibre liquide-vapeur.

5 Le CO_2 arrive donc sous forme liquide à la pompe P_1 , puis il est porté à la température désirée par l'échangeur thermique T_1 . Le CO_2 pénètre alors dans l'extracteur E ; il traverse le matériel en se chargeant en composés extractibles. Dès que la pression dans
10 l'extracteur dépasse la pression affichée, la vanne de décharge V_{12} s'ouvre, le CO_2 est détendu en-deçà de sa valeur critique (73 bars) et il arrive dans le séparateur S. Tandis que l'extract se dissout dans le CO_2 liquide, le CO_2 gazeux en excès dans le séparateur s'en échappe, et il est
15 condensé grâce à l'échangeur thermique T_2 , avant d'être recomprimé par la pompe P_1 . Grâce au recyclage continu du CO_2 , l'appareil peut être isolé de la bouteille B de CO_2 liquide, et il fonctionne sans apport de CO_2 en cours d'extraction.

20 A la fin de l'extraction, le séparateur est refroidi au voisinage de -10°C . La vanne 4 est ouverte, libérant brusquement tout le CO_2 gazeux du séparateur.

La détente d'un gaz réel à haute pression s'accompagne toujours d'un refroidissement. Pour
25 l'anhydride carbonique, on obtient approximativement, pour une mole, une chute de température de l'ordre de 290°C . Le CO_2 se solidifiant à -30°C environ, à la détente il se forme rapidement un bloc de carboglace, emprisonnant l'extract.

Il faut que le séparateur S soit à demi-rempli de
30 CO_2 liquide. S'il vient à être plein, c'est du CO_2 liquide qui sort du séparateur. Il entraîne avec lui une partie de l'extract dans les conduites, d'où une perte en extract. En revanche, s'il ne contient plus de CO_2 liquide, sa température augmente puisqu'il n'y a plus d'évaporation consommatrice de chaleur, et les composés volatils risquent de
35 ressortir du séparateur, le CO_2 liquide n'étant plus là pour jouer le rôle de solvant-piège.

Le bloc de carboglace C obtenu après l'extraction va se sublimer à la pression atmosphérique. Pour ralentir le plus possible la sublimation et donc éviter que les vapeurs de CO_2 (V) n'entraînent des volatils, le bloc de carboglace est placé dans un réacteur (voir Figure 2) à -20°C . Le CO_2 dégagé barbote alors dans un solvant S, afin de récupérer les composés les plus volatils qui seraient, malgré tout, entraînés par le CO_2 gazeux. On constate, après analyse, que le solvant de barbotage renferme généralement des quantités faibles de volatils.

Après sublimation du CO_2 , on récupère des solutions aqueuses d'un volume généralement compris entre 10 et 20 ml, auxquelles on rajoute de l'eau (100 ml) avec laquelle on a rincé les parois du séparateur. On obtient ainsi une solution aqueuse d'un volume final compris entre 110 et 120 ml. Le pH de l'extrait est amené à 9,5 par ajout de 1,5 ml de Na_2CO_3 à 20% (1,9 M), de façon à n'extraire que la fraction neutre.

Les composés aromatiques obtenus en milieux aqueux par la méthode d'extraction au CO_2 supercritique doivent être extraits au solvant pour les analyses ultérieures. Les solutions aqueuses sont ici extraites une première fois pendant 1 heure avec 50 ml de dichlorométhane qui ont servi, au préalable, à rincer également les parois du séparateur, puis deux fois avec 20 ml de dichlorométhane pendant une demi-heure. Les extractions sont réalisées à 0°C dans un bain de glace fondante. On procède pour cela par agitation magnétique et décantation en ampoule.

La phase organique récupérée est séchée à l'aide de sulfate de sodium.

EXTRACTIONS CONFORMES AU PROCEDE DE L'INVENTION

Mode opératoire n° 1 : Extractions menées en présence de glycérol dans le séparateur

Le glycérol, récupéré également après sublimation de la carboglace, est dilué d'un facteur 2 à l'eau ultra

pure Millipore, et le pH de l'extrait est amené à 9,5 par ajout de 10 ml environ de Na_2CO_3 à 20%. L'ajout d'eau au glycérol permet de diminuer la viscosité de celui-ci et facilite l'extraction des composés aromatiques. L'extrait est alors réextrait par 100 ml de trichlorofluorométhane (Forane 11) pendant une heure, et deux fois une demi-heure par 50 ml de Forane 11, puis l'extrait est également extrait au dichlorométhane selon un procédé identique.

10 Mode opératoire n°2 : Extractions menées en présence d'huile d'arachide dans le séparateur.

15 L'huile choisie dans cette expérimentation est l'huile d'arachide, laquelle se caractérise par une teneur élevée en acide oléique et modérée en acides gras polyinsaturés. L'huile a été préalablement désodorisée par une distillation sous vide de $1,33 \times 10^{-3}$ Pa pendant 24 heures.

20 A partir d'extractions conduites en présence d'huile dans le séparateur, on obtient, après sublimation de la carboglace, un extrait composé de deux phases : l'une aqueuse, et l'autre lipidique. L'extrait, auquel on ajoute 100 ml d'eau et 50 ml de solvant de rinçage du séparateur, est alors distillé sous vide. Dans un premier temps, l'extrait est soumis à un vide primaire de 1,33 Pa pendant 3 heures ; ensuite, il est maintenu sous un vide secondaire de $1,33 \times 10^{-3}$ Pa pendant 5 heures.

25 Pour la distillation à 1,33 Pa, on a utilisé le montage schématisé par la Figure 3.

Légende de la Figure 3 :

30 A : ballon contenant l'échantillon
B : robinets
C : piège droit placé dans l'azote liquide
D : piège en spirale placé dans l'azote liquide
E : connection à la pompe et à la jauge à vide.

35 Le ballon A de 6 litres contenant l'extrait plonge dans un bain-marie à 35°C. Les produits volatils et l'eau

sont condensés dans le piège C refroidi par de l'azote liquide. Les pièges à spirales D constituent une sécurité pour éviter des pertes en substances les plus volatiles. Le robinet E, maintenu fermé durant le déroulement de la manipulation, n'est ouvert que pour rétablir le vide.

Les distillats récupérés dans les différents pièges sont réunis avant l'extraction au solvant. L'huile résiduelle en fin de distillation dans le ballon A contient encore en partie des composés parce qu'ils sont moins volatils mais également en raison du pouvoir de rétention élevé de l'huile. Pour extraire ces composés, un vide de 1,33 Pa n'est pas suffisant ; on a alors appliqué un vide de $1,33 \times 10^{-3}$ Pa et utilisé à cet effet le montage de la Figure 4.

Légende de la Figure 4 :

- A : ballon contenant l'échantillon
- B : doigt de gant rempli d'azote liquide
- C : robinet
- D : pièges en spirale placés dans l'azote liquide
- E : connection vers la pompe et la jauge à vide.

Le ballon A de 6 litres (le même que pour la première distillation) plonge dans un bain-marie à 40°C. Les composés volatils sont retenus dans les pièges à spirales D. Le montage dispose également d'un doigt de gant B, rempli d'azote liquide. Les substances les moins volatiles vont se piéger sur les parois du doigt de gant sous l'effet du vide poussé et de la proximité de la surface froide, ce qui rapproche ce mode d'extraction d'une distillation moléculaire.

Une fois celle-ci terminée, les substances à piéger sont récupérées par rinçage du doigt de gant avec le même solvant que celui utilisé pour l'extraction des fractions retenues dans les pièges. Elles sont ajoutées avant concentration au solvant d'extraction des autres fractions.

FEUILLE DE REMPLACEMENT

L'ensemble des fractions obtenues dans les deux distillations sous vide successives sont réunies et réextraites 1 heure avec 50 ml de Forane 11 et 2 fois une demi-heure avec 20 ml. Puis, l'extrait est également extrait au dichlorométhane dans les mêmes conditions.

Mode opératoire n° 3 : Extractions menées en présence de β -cyclodextrines dans le séparateur

Les β -cyclodextrines (polymères cycliques de 7 unités glucose), qui sont utilisées, sont caractérisées par leur spectre infrarouge comparable à celui obtenu par WIEDENHOF et al, 1969, "Properties of cyclodextrins part III. Cyclodextrin-epichlorhydrin resins : Preparation and analysis. Die Stärke, 21, 119.

Les extractions en présence de cyclodextrines ont été menées parallèlement, de façon classique, et dans le séparateur de l'extracteur B du dispositif de l'invention.

(a) *Extraction menée de façon classique :*

10 g de β -cyclodextrines sont dissous dans 200 ml d'une solution d'éthanol/eau (1/2) (V/V) à 55°C. 10 ml du matériel de départ (constitué par une solution modèle qui sera décrite ci-après) sont ajoutés à la solution de β -cyclodextrines à 55°C. Le mélange est mis à refroidir lentement (4 heures environ) jusqu'à ce qu'il atteigne une température ambiante de 22-24°C, tout en maintenant une agitation magnétique. Le mélange est alors placé à 4°C pendant 16 heures. Les complexes formés sont récupérés après centrifugation pendant 10 minutes à 16 300 g et filtration du surnageant sur un verre fritté de porosité 4.

(b) *Extraction menée à haute pression dans le séparateur :*

10 g de β -cyclodextrines sont dissous dans 200 ml d'une solution d'éthanol/eau (1/2) (V/V) à 55°C. La solution est placée dans le séparateur avant extraction.

En fin d'extraction, le séparateur renfermant l'extrait est laissé sous pression une nuit à 4°C, puis il

FEUILLE DE REMPLACEMENT

12

est refroidi à -10°C et détendu brutalement. La carboglace obtenue est mise à sublimer et l'extrait obtenu est centrifugé (10 minutes à 16 300 g) et filtré. On obtient un précipité de β -cyclodextrines et un surnageant, les deux fractions étant fortement aromatiques.

Le précipité (formé des complexes) est remis en suspension dans 100 ml d'eau ultra pure et extrait 2 fois 1 heure avec 50 ml de dichlorométhane, et deux fois une demi-heure avec 20 ml de dichlorométhane avec une agitation magnétique vigoureuse.

En raison de sa forte teneur en alcool (39°C), le surnageant a été dilué avec de l'eau ultra pure de façon à amener son degré alcoolique à 3°C pour éviter de former un mélange ternaire avec le solvant. Il est extrait 1 heure avec 100 ml de dichlorométhane et deux fois une demi-heure avec 50 ml de dichlorométhane.

TECHNIQUE COMPARATIVE : Extraction liquide-liquide

La méthode d'extraction de comparaison choisie est l'extraction liquide-liquide. Le solvant est recyclé après avoir traversé le matériel de départ, ce qui limite la quantité de solvant utilisé. Le matériel (solution modèle de framboise décrite ci-après) est extrait 4 heures avec 200 ml de dichlorométhane ou 200 ml de Forane 11. Ces opérations sont réalisées dans une pièce climatisée à 15°C .

II - MATERIEL DE DEPART

Matériel n° 1 : Solution modèle de framboise :

Une solution a été préparée à partir de composés identifiés dans le jus de framboise, ces composés étant regroupés dans le Tableau 1 ci-après :

Tableau 1 : Composition de la solution modèle de framboise

Composés	Quantités en mg
Acétate d'isoamyle	39,0
α -pinène	34,4
Octen-1 ol-3	32,0
Heptanol	24,5
Acétate d'hexyle	35,9
γ -hexalactone	40,8
Linalol	33,4
Phényl-2 éthanol	29,6
Géranol	35,2
γ -octalactone	38,3
Damascénone	38,3
Acétate de menthyle	30,3
α -ionone	27,8
Frambinone	64,3

Parmi ces composés, la p-hydroxy-phényl-1 butanone-3 (ou frambinone) présente une odeur et une saveur caractéristiques de la framboise.

Matériel n° 2 : Solution modèle de composés très volatils (STV) :

Cette solution comprend 13 composés parmi ceux qui ont les points d'ébullition les plus bas et qui participent à l'arôme de framboise. La solution conçue comprend un nombre important de terpènes ainsi que l'acétate de butyle, l'ester le plus volatil retrouvé dans le jus de framboise. La solution contient également des composés polaires tels que les alcools et les lactones parmi les plus volatils (Tableau 2).

FEUILLE DE REMPLACEMENT

Tableau 2 : Solution modèle de composés volatils (STV)

Composés	Quantité en mg
Hexanone-2	33,9
Acétate de butyle	47,5
Méthyl-4 pentanol	31,9
Cis-hexen-3 ol-1	32,9
Hexanol	35,7
Heptanone-2	33,6
γ -butyrolactone	52,9
α -pinène	35,3
Camphène	45,6
Myrcène	43,7
α -phellandrène	44,4
Acétate d'hexyle	47,5
γ -terpinène	41,1

Les solutions n° 1 et n° 2 ont été préalablement diluées dans 20 ml d'éthanol distillé. Pour chaque extraction au CO₂ supercritique, 500 μ l de chacune de ces solutions préliminaires sont dilués dans 1 litre d'eau ultra pure. Les concentrations dans chacune des solutions s'approchent de celles d'un véritable jus de framboise.

Matériel n° 3 : Jus de framboise :

On a utilisé des framboises de la variété "Rose de Côte d'Or" (*Rubus Idaeus*), considérée comme étant une des plus aromatiques.

Les framboises, partiellement décongelées, et maintenues à une température inférieure à 4°C, sont broyées jusqu'à l'obtention d'une purée homogène. Le jus est obtenu en centrifugeant le broyat à 16300 g pendant 20 minutes. On obtient environ 640 ml de jus pour 1 kg de framboises.

Avant l'extraction au CO₂ supercritique, on ajoute un anti-mousse, le polypropylène glycol, au jus de framboise à une concentration de 0,1/1000.

Les exemples suivants illustrent l'invention.

Exemple 1 : Mode opératoire n°2 et matériel n°2

Les résultats obtenus figurent dans le Tableau 3.

FEUILLE DE REMPLACEMENT

Tableau 2 : Extraction de la solution modèle (STV) au CO₂ supercritique (P = 150 bars et T = 36°C) en présence ou non d'huile alimentaire dans le séparateur.

5	Composés	Quantité dans la solution en mg	Témoin : sans huile		Extractions avec 200 ml d'huile	
			\bar{X}	CV	\bar{X}	CV
10	Hexanone-2	0,8	40	96	75	11
	Acétate de butyle	0,9	15	25	73	12
	Méthyl-4 pentanol	0,8	56	10	68	9
	cis-hexen-3 ol-1	0,8	71	20	77	8
	Hexanol	0,8	64	20	76	7
15	Heptanone-2	0,8	42	90	78	7
	γ -butyrolactone	1,0	67	0	44	21
	α -pinène	0,8	3,5	83	29	36
	Camphène	0,8	3	150	32	40
	Myrcène	0,8	3	147	34	38
20	α -phellandrène	0,8	1	173	42	23
	Acétate d'hexyle	0,9	28	20	78	6
	γ -terpinène	0,8	4	132	41	35

\bar{X} : moyenne des rendements (en pourcentage)

CV : coefficient de variation (en pourcentage)

On observe que les teneurs en hexanone-2 et heptanone-2 sont doublées si l'huile est présente. De même que les esters voient leurs rendements plus que doublés, l'acétate de butyle, par exemple, a un rendement qui est quintuplé.

En ce qui concerne les alcools, ainsi que la lactone, on observe une augmentation de leurs taux d'extraction dans les extraits obtenus en présence d'huile, bien que cette augmentation soit modérée et la moins importante de l'ensemble des classes chimiques.

FEUILLE DE REMPLACEMENT

Etude des différents procédés de récupération de l'extrait

5 Au cours des extractions menées avec le CO₂ supercritique, le CO₂ est maintenu à l'équilibre liquide-vapeur dans le séparateur, le CO₂ liquide servant à retenir les composés extraits. La présence simultanée dans le séparateur de CO₂ liquide et d'huile doit conduire à l'apparition d'une seule phase en raison des propriétés de miscibilité entre les deux corps.

10 On a cherché à savoir si la capacité de l'huile à retenir les composés serait meilleure, égale ou moindre en absence de CO₂ liquide dans le séparateur.

15 On a donc mené des extractions en absence de CO₂ liquide dans le séparateur. La suppression du CO₂ liquide dans le séparateur présente au moins le double avantage de rendre plus aisée la conduite des extractions et de réduire le temps de détente du séparateur. La détente est un phénomène très violent au cours duquel se produisent les principales pertes en composés volatils.

20 En absence de CO₂ liquide dans le séparateur, on a été amené à remettre en question le procédé de récupération de l'extrait, la quantité réduite de CO₂ dans le séparateur ne permet que très peu ou pas de formation de carboglace. On a donc retenu les deux procédés possibles de récupération de l'extrait, d'une part le soutirage de l'extrait en fin d'extraction alors que le séparateur est encore sous pression, d'autre part on a gardé le refroidissement du séparateur par détente brutale. Les résultats obtenus figurent dans le Tableau 4 :

30

35

Tableau 4 : Extraction de la solution modèle (STV) au CO₂ supercritique (P = 150 bars et T = 36°C)
Etude de différentes conduites de l'extraction au niveau du séparateur.

Composés	PROCEDE 1 Séparateur : CO ₂ liquide + huile + Récupération de l'extrait : Refroidissement et détente brus- que.		PROCEDE 2 Séparateur : CO ₂ liquide - huile + Récupération de l'extrait : soutirage.		PROCEDE 3 Séparateur : CO ₂ liquide - huile + Récupération de l'extrait : Refroidissement et détente brus- que.	
	\bar{X}	CV	\bar{X}	CV	\bar{X}	CV
Hexanone-2	75	11	38	10	50	14
Acétate de butyle	73	12	37	10	51	14
Méthyl-4 pentanol	68	9	43	10	61	3
Cis-hexen-3 ol-1	77	8	49	9	70	2
Heptanone-2	76	7	45	10	71	3
2-heptanone	78	7	45	11	62	8
γ -butyrolactone	44	21	21	3	39	22
α -pinène	29	36	15	26	20	12
Camphène	32	40	16	19	24	11
Myrcène	34	38	16	12	25	14
α -phellandrène	42	28	17	32	39	28
Acétate d'hexyle	75	2	35	18	46	16
γ -terpinène	41	35	16	9	32	16

\bar{X} : moyenne des rendements (en pourcentage)

CV : coefficient de variation (en pourcentage)

Les cétones présentent des rendements élevés, surtout en présence de CO₂ liquide et quand l'extrait est récupéré sous forme de carboglace (Procédé 1) et leurs taux sont deux fois plus élevés que ceux obtenus en absence de CO₂ liquide et par soutirage (Procédé 2). Les rendements de ces composés sont également significativement plus importants que ceux obtenus en absence de CO₂ liquide et avec de la carboglace (Procédé 3).

FEUILLE DE REMPLACEMENT

On a également retrouvé l'acétate de butyle dans l'huile. Pour ce composé, le meilleur des trois procédés est le procédé 1. Quand on applique les autres procédés, la teneur en acétate de butyle de l'extrait chute, spécialement dans le cas du procédé 3.

Les teneurs en alcools sont plus élevées quand on applique le procédé 1 ou le procédé 3 qu'avec le procédé 2. En revanche, la présence ou l'absence de CO_2 liquide n'a pratiquement pas d'effet sur les rendements des alcools ; on observe, en effet, aucune différence entre les procédés 1 et 3 pour ces composés. Les alcools extraits sont solubilisés dans la fraction aqueuse présente dans le séparateur. Les quantités d'alcools récupérées vont alors dépendre du refroidissement et de la détente brutale qui induisent une prise en glace de l'eau qui emprisonnera les alcools.

La γ -butyrolactone est également mieux récupérée, surtout avec les procédés 1 et 3, le procédé 2 donne le rendement le plus médiocre. En raison de la polarité de la lactone, son comportement suit celui des alcools.

Parmi les hydrocarbures extraits, on ne note pas de différence entre les procédés 1 et 3, sauf pour l' α -pinène pour lequel les rendements sont comparables quel que soit le mode de récupération de l'extrait. Les extraits obtenus avec le procédé 2 montrent une diminution de la teneur en hydrocarbures terpéniques.

L'emploi de l'huile alimentaire ne permet pas de s'affranchir de la présence de CO_2 liquide dans le séparateur. Le mélange (CO_2 liquide + huile) présente des propriétés différentes et plus avantageuses que l'huile seule puisque le procédé 1 offre les meilleurs rendements des trois procédés.

La réfrigération du séparateur suivie d'une détente brutale est également préférable, les rendements obtenus, par cette méthode, sont, dans leur majorité, supérieurs à ceux obtenus par soutirage.

FEUILLE DE REMPLACEMENT

Exemple 2 : Mode opératoire n°2 et matériel n°2

On vise à retenir les composés volatils extraits par le CO₂ supercritique à l'aide de glycérol bidistillé rajouté dans le séparateur de façon à produire du glycérol aromatisé.

L'ajout de glycérol dans le séparateur se traduit par l'apparition d'une nouvelle phase dans le séparateur, le glycérol est en effet très peu soluble dans le CO₂ liquide (la solubilité du glycérol dans le CO₂ liquide est de 0,05% (p/p).

A - Comparaison de l'extraction avec et sans glycérol

Les données sont rapportées dans le Tableau 5 ci-après :

Tableau 5 : Extraction de la solution modèle (STV) au CO₂ supercritique (P = 50 bars et T = 36°C) en présence ou non de glycérol dans le séparateur.

Composés	Quantités dans la solution (en mg)	Témoin sans glycérol		Extractions avec 200 ml de glycérol	
		\bar{X}	CV	\bar{X}	CV
Hexanone-2	0,8	40	96	75	19
Acétate de butyle	0,9	15	25	62,5	23
Méthyl-4 pentanol	0,8	56	10	82,5	11
Cis-hexen-3 ol-1	0,8	71	20	76	5
Hexanol	0,8	64	24	83	3
Heptanone-2	0,8	42	90	72	11
γ -butyrolactone	1,0	67	0	55	8
α -pinène	0,8	3,5	83	26	16
Camphène	0,8	3	150	35	15
Myrcène	0,8	3	147	28,5	22
α -phellandrène	0,8	1	173	12,5	39
Acétate d'hexyle	0,9	28	20	65	13
γ -terpinène	0,8	4	132	29	9

\bar{X} : moyenne des rendements (en pourcentage)

CV : coefficient de variation (en pourcentage)

Hormis la γ -butyrolactone, les composés extraits ont de meilleurs rendements d'extraction en présence de glycérol dans le séparateur. Les alcools ont de bons rendements d'extraction situés autour de 80%. Les hydrocarbures présentent des rendements d'extraction de l'ordre de 30%, excepté l' α -phellandrène dont la valeur est plus faible (de moitié environ). Néanmoins, en raison des faibles taux de récupération des hydrocarbures en absence de glycérol, la moindre amélioration des rendements devient importante pour ces composés. Les cétones présentent également, avec le glycérol, des rendements d'extraction supérieurs. Le facteur multiplicatif est de l'ordre de 2 pour ces composés. Les deux composés suivent pratiquement la même évolution, la longueur de la chaîne carbonée ne joue apparemment aucun rôle. L'acétate de butyle et l'acétate d'hexyle sont, de même, mieux récupérés en présence de glycérol, les rendements augmentant de 2 à 3 fois.

Les cétones et les esters ont donc de très bons rendements dans le glycérol et sont les deux classes chimiques qui se prêtent le mieux à l'extraction en présence de glycérol. Les alcools étant déjà bien extraits sans glycérol, l'intérêt du glycérol reste moindre pour ces composés.

De plus, tous les résultats montrent que la reproductibilité de cette technique d'extraction croît par ajout de glycérol dans le séparateur.

D - Accumulation des composés volatils dans le glycérol

Des expériences de multiplication de la charge de composés volatils dans l'extracteur ont été menées, afin d'évaluer s'il est possible d'obtenir du glycérol aromatisé avec un degré de concentration plus élevé.

Le mode opératoire est tel que la charge de composés volatils utilisée soit d'environ 10 fois plus élevée que la charge précédente, d'une expérience à l'autre.

21

Par ailleurs, pour s'affranchir de l'influence du temps d'extraction, on extrait toutes les solutions pendant 13 heures. Tous les résidus analysés en fin d'extraction ne contiennent que moins de 1% de chacun des composés, à l'exception de l' γ -butyrolactone dont la teneur résiduelle fluctue entre 2 et 5%.

Les résultats figurent dans le Tableau 6.

10

FEUILLE DE REMPLACEMENT

Tableau 6 : Extraction de la solution modèle (STV) au CO₂ supercritique (P = 150 bars et T = 36°C) en présence de glycérol avec différentes charges en composés volatils.

Composés	I		
	Charge en mg	Quantité récupérée (en mg)	Coefficient de variation en %
Hexanone-2	0,8	0,6	19
Acétate de butyle	0,9	0,6	23
Méthyl-4 pentanol	0,8	0,7	11
Cis-hexen-3 ol-1	0,8	0,6	5
Hexanol	0,8	0,7	3
Heptanone-2	0,8	0,6	11
γ-butyrolactone	1,0	0,55	8
α-pinène	0,8	0,2	16
Camphène	0,8	0,3	15
Myrcène	0,8	0,2	22
α-phellandrène	0,8	0,1	39
Acétate d'hexyle	0,9	0,6	13
γ-terpinène	0,8	0,2	9

Composés	II		
	Charge en mg	Quantité récupérée (en mg)	Coefficient de variation en %
Hexanone-2	7,0	5,7	12
Acétate de butyle	7,4	5,5	13
Méthyl-4 pentanol	6,8	6,2	9
Cis-hexen-3 ol-1	-	-	-
Hexanol	6,8	6,0	9
Heptanone-2	6,2	5,0	12
γ-butyrolactone	9,6	8,5	10
α-pinène	7,2	1,3	31
Camphène	7,3	1,5	19
Myrcène	6,8	1,4	15
α-phellandrène	7,1	1,0	48
Acétate d'hexyle	7,2	4,2	13
γ-terpinène	7,8	1,8	13

Tableau 6 (suite) :

Composés	III		
	Charge en mg	Quantité récupérée (en mg)	Coefficient de variation en %
Hexanone-2	70	47,0	6
Acétate de butyle	74	44,4	14
Méthyl-4 pentanol	68	53,7	14
Cis-hexen-3 ol-1	-	-	-
Hexanol	68	51,0	13
Heptanone-2	62	42,2	12
γ -butyrolactone	96	61,4	17
α -pinène	72	46,1	24
Camphène	73	56,9	9
Myrcène	68	44,2	13
α -phellandrène	71	43,3	23
Acétate d'hexyle	72,5	50,0	8
γ -terpinène	78	50,7	13

FEUILLE DE REMPLACEMENT

Les deux cétones suivent la même évolution en fonction de la charge admise dans l'extracteur. On constate que la quantité de ces composés retenue dans le glycérol augmente avec la charge de départ. Cette quantité reste proportionnelle à la teneur en cétone de la solution.

Les quantités d'alcools récupérées dans le glycérol sont également élevées, aussi bien à partir d'une charge de 7 mg que de 70 mg.

Pour les esters, les quantités récupérées augmentent avec la charge admise dans l'extracteur. Lorsque la charge s'élève à 70 mg environ, le glycérol peut retenir jusqu'à 50 mg d'hexyle.

De même, on observe que la quantité de γ -butyrolactone retenue dans le glycérol augmente.

Lorsque la charge admise est de 0,7 ou 7 mg environ, les quantités d'hydrocarbures retenues sont les plus faibles et se situent respectivement entre 0,1 et 0,3 mg ou 1,3 et 1,8 mg, ce qui situe les rendements de ces composés approximativement entre 12 et 28% dans les deux cas. En revanche, lorsque la charge appliquée est de l'ordre de 70 mg, les quantités retenues augmentent de façon importante, en moyenne 50 mg de chacun des hydrocarbures sans distinction. Ainsi, les rendements, pour ces composés, s'élèvent à 65 % environ, étant alors largement plus importants qu'avec les deux premières charges.

D'une manière générale, le glycérol retiendra d'autant plus les composés que la concentration de ceux-ci dans la solution modèle sera élevée.

Les quantités de composés utilisées dans ces expériences de multiplication de la charge sont telles qu'il a paru nécessaire de comparer les extractions menées avec des charges de 7 et 70 mg à des extractions témoins avec des charges comparables réalisées sans ajout de glycérol. La Figure 5 illustre ces expériences.

Légende de la Figure 5 : Histogrammes des rendements des différentes classes chimiques en présence ou non de glycérol



Témoin



Glycérol

Il apparaît, en premier lieu, que si la charge admise influence la quantité récupérée en présence de glycérol, c'est évidemment vrai avec les témoins.

Il ressort de ces expériences que, pour les cétones, l'ajout de glycérol apporte une amélioration certaine par rapport au témoin ; il en est de même pour les esters.

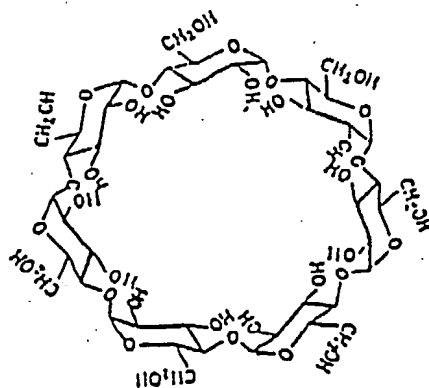
En ce qui concerne les alcools, la charge de 7 mg met en évidence un effet avantageux du glycérol.

Pour les hydrocarbures terpéniques, l'ajout de glycérol paraît tout à fait bénéfique, quelle que soit la charge appliquée. Chez le témoin, les rendements obtenus avec une charge de 70 mg augmentent mais restent très largement inférieurs à ceux obtenus en présence de glycérol.

Il apparaît donc qu'en présence de glycérol dans le séparateur, le taux de récupération augmente. Une fraction au moins des composés, normalement dissous dans le CO_2 liquide, se retrouve dans le glycérol dans des proportions dépendantes du coefficient de partage de chaque composé entre les deux phases. Ce coefficient de partage reflète la capacité du glycérol à retenir les composés volatils.

Exemple 3 (a) : Mode opératoire n°3 et matériel n°2

Les cyclodextrines sont des oligosaccharides cycliques comprenant 6, 7 ou 8 unités glucopyranoses. La β -cyclodextrine (β -CD), la plus importante et la plus utilisée du groupe, comprend 7 unités glucopyranoses :



FEUILLE DE REMPLACEMENT

La β -cyclodextrine est soluble dans l'eau, tous les groupements hydroxyle se trouvent à la surface externe du cycle, la cavité interne est légèrement apolaire.

5 (a) Formation de complexes dans les conditions classiques :

Dans un premier temps, on mesure la capacité des composés à former des complexes avec les β -CD dans les conditions classiques d'utilisation de ces agents complexants. Les résultats obtenus figurent dans le

10 Tableau 7.

Tableau 7 : Formation classique de complexes entre la solution modèle (STV) et les β -cyclodextrines

Composés	Quantité dans la solution en mg	A. Pourcentage de composés inclus dans les BCD	Coefficient de variation %	B Surnageant : Rendement en %	Teneurs totales en composés des ECD = $A + [100 - (A+B)]$ (en %)
Hexanone-2	0,8	40	16	50	50
Acétate de butyle	0,9	56	24	33,5	66,5
Méthyl-4 pentanol	0,8	37	21	61	39
Cis-hexen-3 ol-1	0,8	36	18	53	47
Hexanol	0,8	37,5	19	50	50
Heptanone-2	0,8	60	20	28	72
γ -butyrolactone	1,0	4	13	88	10
α -pinène	0,8	73	10	2,5	97,5
Camphène	0,8	72	11	3	97
Myrcène	0,8	78	5	3	97
α -phellandrène	0,8	73	8	4	96
Acétate d'hexyle	0,9	81	0	4	96
γ -terpinène	0,8	75	1	6	94

35

En première analyse, on se rend compte que le taux de complexes formés est variable et dépend de la nature du composé mis en jeu.

FEUILLE DE REMPLACEMENT

Il apparaît que le taux de complexes formés pour les hydrocarbures sont les plus élevés (de l'ordre de 75%). Le total (surchargeant + β -CD) est inférieur à 100%, il manque environ 20% de chaque hydrocarbure, dû à l'extraction imparfaite des composés inclus dans les β -CD par le dichlorométhane. Les taux de complexes de ces composés doivent se situer autour de 95% comme l'indique la dernière colonne du Tableau 7.

(b) Comparaison d'extractions au CO_2 supercritique menées avec et sans β -cyclodextrines.

Les résultats des expériences menées sont rassemblés dans le Tableau 8.

Tableau 8 : Extractions de la solution modèle (STV) au CO_2 supercritique ($P = 150$ bars et $T = 36^\circ\text{C}$) en présence de β -cyclodextrines

Composés	Quantités dans la solution modèle en mg	Témoins sans β -cyclodextrines		Extractions avec 10 g de β CD	
		\bar{X}	CV	\bar{X}	CV
Hexanone-2	0,8	40	96	19	30
Acétate de butyle	0,9	15	25	20	17
Méthyl-4 pentanol	0,8	56	10	17	12
Cis-hexen-3 ol-1	0,8	71	20	19	32
Hexanol	0,8	64	20	25	24
Heptanone-2	0,8	42	90	18	25
γ -butyrolactone	1,0	67	0	3	45
α -pinène	0,8	3,5	83	19	34
Camphène	0,8	3	150	19	30
Myrcène	0,8	3	147	26	38
α -phellandrène	0,8	1	173	4	13
Acétate d'hexyle	0,9	28	20	38	35
γ -terpinène	0,8	4	132	15	27

\bar{X} : moyenne des rendements (en pourcentage)

CV : coefficient de variation (en pourcentage)

FEUILLE DE REMPLACEMENT

La plupart des composés ont des taux de formation de complexe de l'ordre de 20%. On obtient un extrait dont le profil chromatographique est équilibré.

5 La γ -butyrolactone est le seul composé à avoir un rendement très faible, formant très peu de complexe avec les β -CD. Ce phénomène rejoint celui observé lors des expériences effectuées dans les conditions classiques d'utilisation des β -CD

10 La répétabilité de la méthode d'extraction est améliorée en présence des β -CD puisque les coefficients de variation sont tous inférieurs à 36%. Ceci est particulièrement vrai pour les hydrocarbures dont la variabilité a fortement baissé par rapport au témoin.

15 En raison de la quantité de composés volatils présents dans la solution modèle, inférieure à celle des β -CD, la pool de cyclodextrines ne peut pas être saturé en composés volatils et un bon nombre de β -CD n'est pas sous forme de complexes avec les composés volatils. On a alors augmenté la quantité des composés volatils extraits pour
20 mesurer l'influence de la teneur en composés volatils de la solution modèle sur la quantité de complexes formés et évaluer les limites des β -CD.

(c) *Accumulation des composés volatils dans les β -cyclodextrines*

25 Les données de l'accumulation sont rassemblées dans le Tableau 9.

30

35

FEUILLE DE REMPLACEMENT

Tableau 9 : Extraction de la solution modèle (STV) au CO₂ supercritique (P = 150 bars et T = 36°C) en présence de β -cyclodextrines, avec différentes charges en composés volatils.

Composés	I			II		
	Charge en mg	\bar{X}	CV	Charge en mg	\bar{X}	CV
Hexanone-2	0,8	19 (0,15 mg)	30	7,0	43 (3,0 mg)	18
Acétate de butyle	0,9	20 (0,2 mg)	17	7,4	56 (4,1 mg)	11
Méthyl-4 pentanol	0,8	17 (0,13 mg)	12	6,8	42 (2,8 mg)	9
Cis-hexen-3 ol-1	0,8	19 (0,15 mg)	32	-	-	-
Hexanol	0,8	25 (0,2 mg)	24	6,8	50 (3,4 mg)	10
Heptanone-2	0,8	18 (0,15 mg)	25	6,2	59 (3,6 mg)	8
γ -butyrolactone	1,0	4 (0,04 mg)	43	9,6	6 (0,6 mg)	57
α -pinène	0,8	19 (0,15 mg)	34	7,2	40 (2,9 mg)	23
Camphène	0,8	19 (0,15 mg)	30	7,3	41,5 (3,0 mg)	22
Myrcène	0,8	26 (0,2 mg)	38	6,8	48 (3,2 mg)	15
α -phellandrène	0,8	4 (0,03 mg)	13	7,1	39 (2,7 mg)	21
Acétate d'hexyle	0,9	38 (0,3 mg)	35	7,2	66 (4,7 mg)	11
γ -terpinène	0,8	15 (0,12 mg)	27	7,8	37 (2,9 mg)	27

\bar{X} : moyenne des rendements (en pourcentage)
CV : coefficient de variation (en pourcentage)

~~FEUILLE DE REMPLACEMENT~~

Tableau 9 (suite) :

Composés	III			IV		
	Charge en mg	\bar{X}	CV	Charge en mg	\bar{X}	CV
Hexanone-2	70	25 (17,5 mg)	3	682	16 (109,1 mg)	17
Acétate de butyle	74	31,5 (23,3 mg)	7	772	21 (162,1 mg)	7
Méthyl-4 pentanol	68	39 (26,5 mg)	5	589	24 (141,3 mg)	12
Cis-hexen-3 ol-1	-	-	-	-	-	-
Hexanol	68	50 (34,0 mg)	3	698	23 (160 mg)	6
Heptanone-2	62	34 (21,0 mg)	3	696	24 (167 mg)	9
γ -butyrolactone	96	8 (7,7 mg)	25	820	7 (57 mg)	15
α -pinène	72	50 (36,0 mg)	7	814	41 (333 mg)	17
Camphène	73	52 (38,0 mg)	11	741	42 (311 mg)	6
Myrcène	68	57 (38,7 mg)	6	726	40 (290,4 mg)	14
α -phellandrène	71	53 (37,6 mg)	8	735	51 (374 mg)	14
Acétate d'hexyle	72,5	54 (39,1 mg)	20	754	38 (286 mg)	15
γ -terpinène	78	55 (42,9 mg)	5	779	39 (303 mg)	11

 \bar{X} : moyenne des rendements (en pourcentage)

CV : coefficient de variation (en pourcentage)

FEUILLE DE REMPLACEMENT

Tableau 9 (suite) :

Composés	V		
	Charge en g	\bar{X}	CV
Hexanone-2	2,96	5,7 (168,7 mg)	6
Acétate de butyle	3,21	6 (192,1 mg)	11
Méthyl-4 pentanol	-	-	-
Cis-hexen-3 ol-1	-	-	-
Hexanol	2,94	7 (205 mg)	10
Heptanone-2	3,02	7 (211,4 mg)	20
δ -butyrolcatone	4,10	2,5 (102,5 mg)	28
α -pinène	3,17	9,5 (301 mg)	14
Camphène	3,17	11 (348 mg)	6
Myrcène	2,99	10 (299 mg)	14
α -phellandrène	3,10	11 (341 mg)	6
Acétate d'hexyle	3,19	11 (350 mg)	0
δ -terpinène	3,12	9 (280 mg)	15

 \bar{X} : moyenne des rendements (en pourcentage)

CV : coefficient de variation (en pourcentage)

FEUILLE DE REMPLACEMENT

Il ressort que l'augmentation de la charge moyenne à 7 mg environ pour chacun des composés favorise la formation des complexes. Les pourcentages de complexes d'inclusion augmentent pour tous les composés.

5 L'augmentation la plus forte concerne le groupe des hydrocarbures terpéniques. En ce qui concerne les cétones, le pourcentage de complexes formés avec la β -CD a doublé tout comme pour les esters et les alcools.

10 Ces augmentations peuvent s'expliquer par une meilleure probabilité de rencontre entre les β -CD et les composés volatils.

Si la charge de chaque composé est encore multipliée par 10, les pourcentages obtenus restent élevés. L'analyse de Fisher ne met pas en évidence dans l'ensemble
15 de variations significatives des rendements par rapport à la précédente expérience. Les hydrocarbures terpéniques forment des complexes dans des proportions intéressantes qui, pour ces composés, améliorent notablement leurs rendements et montre l'intérêt d'employer les β -CD pour
20 retenir ces composés très volatils. Environ 50% des hydrocarbures sont ainsi récupérés malgré l'étape de la décompression brusque.

On a enfin mené des extractions avec des teneurs moyennes de 3 g pour chacun des composés. Les rendements
25 obtenus présentent une baisse significative pour l'ensemble des composés. Les taux de complexes formés se situent entre 6 et 11%, hormis la γ -butyrolactone. Ces résultats confirment la saturation des β -CD. Si l'on suit le rapport molaire global en fonction de la quantité totale des
30 composés présents dans l'extracteur (Figure 6), on constate l'apparition d'un plateau lorsque le rapport atteint la valeur 2,4 environ. L'ajout de composés volatils ne modifie pas significativement le rapport molaire.

35 Légende de la Figure 6 :

Abscisses: Quantité totale de composés volatils Q (en mg) ;
Ordonnées: Rapport molaire R (moles de composés/moles de β -CD).

On a également analysé l'évolution du rendement d'un composé de chaque classe chimique en fonction de sa quantité dans la solution modèle (Figures 7 pour l'hexanol, 8 pour l' α -pinène, 9 pour l'acétate de butyle et 10 pour l'heptanone-2).

Légende des Figures 7 à 10 :

Abscisses : Charge C en composé (en mg) ;

Ordonnées : Quantité Q retenue dans 10 mg de β -CD.

Quelle que soit la classe chimique, tous les composés retenus suivent un processus comparable à l'évolution de la teneur globale, c'est-à-dire une augmentation régulière du taux de complexes formés jusqu'à l'obtention d'un plateau plus ou moins élevé selon le composé.

Exemple 3 (b) : Mode opératoire n° 1 à 3 et matériel n°3

Dans l'étude de l'extraction au CO_2 supercritique des jus de framboise, le Forane 11 a été préféré au dichlorométhane. Les raisons de ce choix sont liées à l'étape supplémentaire de concentrations de 1 ml à 100 μ l des extraits obtenus au CO_2 supercritique. On a extrait les concentrés d'arômes récupérés par extraction au CO_2 supercritique dans un premier temps avec du Forane 11, puis dans un deuxième temps par une extraction au dichlorométhane. Cette extraction complémentaire permet de doser les composés qui ne sont pas ou peu entraînés par le Forane 11, tels que la frambinone.

Les extractions ont été menées sur 300 g de framboises et également sur 2 kg de fruits de façon à mesurer l'influence de la charge sur les rendements d'extraction.

En présence d'huile ou de glycérol

A partir de 300 g de fruits

a) Extractions Forane 11 (Tableau 10) :

FEUILLE DE REMPLACEMENT

Tableau 10 : Extraction au CO₂ supercritique (P = 150 bars
et T = 36°C) du jus de framboise.
Constituants volatils neutres identifiés.

COMPOSES	témoin		Extractions avec 200 ml de glycérol		Extractions avec 200 ml d'huile	
	X (µg)	CV (%)	X (µg)	CV (%)	X (µg)	CV (%)
<u>HYDROCARBURES</u>						
α-pinène	-		1,5	13	4,2	40
Myrcène	-		-	-	2	29
p-Cymène	-		1,8	25	2,2	20
β-phéllandrène	-		-	-	2,6	24
Caryophyllène	-		-	-	1,8	17
α-humulène	n.d.		n.d.	n.d.	n.d.	
<u>ESTERS</u>						
Acétate d'éthyle	n.d.		n.d.	n.d.		
Acétate d'isoamyle	-		-	-	1,2	20
Acétate d'isopenté- nyle	3,4	18	5,8	14	5,6	20
Hexanoate d'éthyle	1,3	17	2,3	5	5	29
Acétate de cis-hexen-3 yle-1	3,5	51	-	-	4,7	11
Acétate d'hexyle	0,7	71	0,8	2	1	43
Hydroxy-5 octanoate d'éthyle	n.d.		n.d.		n.d.	
Acétate de mentyle	7, 6	18	10,3	10	12,6	14
Hydroxy-5 décanoate d'éthyle	n.d.		n.d.		n.d.	
<u>ALDÉHYDES</u>						
Pentanal	n.d.		n.d.	n.d.	n.d.	
Hexanal	102	89	116,7	47	77	24
Heptanal	2,6	91	2,7	19	11	4
Benzaldéhyde	-		-		2,1	25
Octanal	4,2	54	6,8	14	9	18
Nonanal	13,3	69	28,5	27	19,4	20
Décanal	n.d.		n.d.		n.d.	
Céranial	1,3	7,4	1,5	24	-	
Nonadien-2,4 al	n.d.		n.d.		n.d.	

Tableau 10 (suite)

CETONES

Heptanone-2	1,4	37	2,8	6	3,2	19
Cyclohexanone	n.d.		n.d.		n.d.	
Nonanone-2	n.d.		n.d.		n.d.	
Dihydro- α -ionone	1,7	36	1,9	20	2,1	25
α -ionone	7,7	11	19,6	3	19,8	19
β -ionone	10,2	28	26,8	8	28,5	13
Gingérone	6,9		5,1	24	2,8	66

ALCOOLS

Pentanol	n.d.		n.d.		n.d.	
Méthyl-3 butanol	n.d.		n.d.		n.d.	
Méthyl-3 buten-2 ol-1	n.d.		n.d.		n.d.	
cis-hexen-3 ol-1	8,5	45	12,3	20	5,9	26
Hexanol	3,8	20	6,7	15	8,5	23
Heptanol-2	5,5	25	9,8	28	8,9	25
Heptanol	1,7	31	-		1,2	39
Octanol	2	41	3,1	39	2,7	23
Linalol	3,5	13	5,1	16	4,8	19
Phényl-2 éthanol	n.d.		n.d.		n.d.	
Xanthénol	n.d.		n.d.		n.d.	
Nonanol	n.d.		n.d.		n.d.	
Terpinen-4 ol	4,4	11	5,7	15	5,4	28
p-cymen-8 ol	1,3	13	1,5	28	1	28
α -terpinol	2,4	22	5,7	15	3,5	21
Myrténol	1	47	-		-	
Pipéritol	0,9	23	4,8	8	0,8	28
Nérol	2,8	15	3,7	16	3,1	33
Géranol	350	17	358,3	11	353,3	26

LACTONES

γ -butyrolactone	n.d.		n.d.		n.d.	
γ -hexalactone	13,1	22	17,1	29	10,8	45
γ -octalactone	6,2	65	10,6	22	3,6	45
δ -octalactone	40,4	26	49	5	48	53
γ -nonalactone	5,1	65	10,3	20	7,4	32
δ -decalactone	62,2	29	92	23	153,1	21
Dihydroactinidiolide	n.d.		n.d.		n.d.	

ENIERS

Cinéole	1,5	8	1,6	15	1,5	22
---------	-----	---	-----	----	-----	----

 \bar{X} = moyenne des quantités obtenues

CV = coefficient de variation

n.d. = composé non dosé

FEUILLE DE REMPLACEMENT

L'analyse des extraits obtenus à partir de 800 g de fruits montre qu'on ne retrouve pas d'hydrocarbures dans l'extrait témoin. Ces composés, déjà très difficiles à retenir dans le séparateur, sont plus faiblement concentrés dans le jus de framboise. C'est d'ailleurs pour cette raison que ces composés furent parmi les derniers à être mis en évidence dans la framboise. Dans le glycérol, on ne récupère qu'une partie des hydrocarbures, mais c'est surtout dans l'huile que les teneurs en hydrocarbures sont les meilleures.

Le glycérol permet, malgré l'absence d'acétate de cis-hexen-3 yle, une bonne récupération des esters. Toutefois, c'est avec l'huile que les rendements sont les plus élevés pour ces composés. Par ailleurs, l'huile est le seul milieu de piégeage à renfermer de l'acétate d'isoamyle.

Il faut également relever dans les extraits la présence d'hydroxy-5 octanoate d'éthyle et d'hydroxy-5 décanoate d'éthyle, deux esters très odorants mis en évidence pour la première fois dans la framboise par extraction au solvant, puis par extraction au CO₂ supercritique. Compte tenu de l'instabilité attribuée à ces composés, l'extraction au CO₂ supercritique apparaît comme une méthode suffisamment douce pour éviter la transformation de ces composés en lactones.

En revanche, pour la récupération des aldéhydes, le glycérol apparaît supérieur à l'huile qui donne même globalement des rendements inférieurs à ceux obtenus avec le témoin. Il faut noter cependant que le benzaldéhyde n'est présent que dans l'extrait obtenu en présence d'huile. A signaler également, la présence dans les extraits de nonadiène-2,4 al (non dosé) qui, à la connaissance des inventeurs, n'a jamais été mentionné auparavant dans l'arôme de framboise. Ce composé possède une note odorante «vert» avec un seuil de perception très bas ($2,5 \times 10^{-7}$ mg/l).

Pour les cétones, les améliorations apportées par le glycérol et l'huile sont importantes, notamment en présence de ces deux milieux, on améliore de façon importante la quantité d' α -ionone récupérée. D'après les études menées précédemment avec les solutions modèles, les taux de récupération de l' α -ionone sont très élevés et ne nécessitent pas l'aide supplémentaire d'un milieu de rétention. Pourtant les résultats obtenus à partir du jus de framboise montrent que la présence d'un milieu de piégeage permet de doubler la quantité d' α -ionone récupérée. L'explication réside dans les différences de quantités d' α -ionone présentes dans la solution mobile et dans le jus de framboise. Les pertes en α -ionones mesurées lors des essais avec la solution modèle sont moins conséquentes que celles observées lors de l'extraction du jus de framboise. En effet, la concentration en α -ionone est au moins 20 fois plus faible dans ce jus que dans la solution modèle.

La récupération des lactones présente également une amélioration très nette en présence des milieux de piégeage. Le composé le plus remarquable est la δ -décylactone, autre composé majeur de l'extrait, qui possède une odeur typique de noix de coco. Ce composé est mieux récupéré dans l'huile, qui vis-à-vis des lactones à chaîne latérale peu importante, se montre donc plus efficace.

b) Fraction dichlorométhane :

FEUILLE DE REMPLACEMENT

Tableau 11 : Extraction au CO₂ supercritique (P = 150 bars
et T = 36°C) du jus de framboise.
Constituants volatils neutres identifiés.

COMPOSES	témoin		Extractions avec 200 ml de glycérol		Extractions avec 200 ml d'huile	
	X (µg)	CV (%)	X (µg)	CV (%)	X (µg)	CV (%)
<u>ESTERS</u>						
Acétate de mentyle	n.d.		n.d.		n.d.	
<u>ALDEHYDES</u>						
Hexanal	11	72	16	34	4	12
Heptanal	n.d.		n.d.		n.d.	
Nonanal	14	80	19	50	-	
Nonadien-2,4 al	n.d.		n.d.		n.d.	
<u>CETONES</u>						
α-ionone	1,5	23	1	28	1,6	39
β-ionone	1,3	65	4,1	31	3,6	38
Franbinone	8,5	30	26	10	18	4
Gingérone	2,5	2	8,6	26	6,6	11
<u>ALCOOLS</u>						
Méthyl-3 buten-2 ol-1	n.d.		n.d.		n.d.	
cis hexen-3 ol-1	3,9	61	4,3	41	4,1	11
Hexanol	0,7	2	1,1	10	1,4	19
Alcool benzylique	1,7	25	3,3	14	2,1	10
Phényl-2 éthanol	1	48	2,7	9	1	49
Géranol	8	44	3,4	34	0,3	28
<u>LACTONES</u>						
γ-butyrolactone	5,1	43	6,3	28	5	32
γ-hexalactone	13	45	13	19	13,8	31
δ-octalactone	n.d.		n.d.		n.d.	
ε-décalactone	7,8	56	8,1	18	0,9	10

X = moyenne des quantités obtenues

CV = coefficient de variation

n.d. = composé non dosé

Dans la fraction obtenue avec le dichlorométhane, c'est principalement le cas de la frambinone qui est intéressant. Pour ce composé, important pour l'arôme de framboise, l'ajout de glycérol ou d'huile dans le séparateur permet d'augmenter de façon considérable les quantités récupérées. On signale que, pour deux alcools faiblement extraits par le Forane 11, l'alcool benzylique et le phényl-2 éthanol, l'ajout de glycérol améliore les taux de récupération, alors que l'huile n'influence pratiquement pas les rendements de ces deux composés.

D'après le Tableau 12 ci-après, dans lequel figurent les gains apportés à la récupération des différentes classes chimiques par les milieux de piégeage, il ressort que la classe chimique pour laquelle les gains sont les plus élevés est celle des cétones. La polarité moyenne de ces composés doit expliquer, au moins en partie, la similitude de leurs rendements dans le glycérol et dans l'huile.

Tableau 12 : Extraction au CO₂ supercritique de jus de framboise

$$\text{Gains obtenus} = \frac{\text{Quantité (milieu de piégeage)} - \text{quantité (témoin)}}{\text{quantité (témoin)}} \times 100$$

CLASSES CHIMIQUES	EXTRAITS	HYDROCARBURES	ESTERS	ALDÉHYDES	CÉTONES	ALCOOLS	LACTONES
800 g de fruits	glycérol	>>100 %	16 %	29 %	130 %	7 %	35 %
	huile	>>100 %	82 %	-17 %	106 %	1 %	58 %
2 kg de fruits	glycérol	>>100 %	28 %	14 %	40 %	38 %	145 %
	huile	>>100 %	30 %	-1 %	7 %	8 %	89 %

FEUILLE DE REMPLACEMENT

A partir de 2 kg de fruitsa) Fraction Hexane 11
(Tableau 13)

Tableau 13 : Extraction au CO₂ supercritique (P = 150 bars
et T = 36°C) du jus de framboise.
Constituants volatils neutres identifiés.

COMPOSES	témoin		Extractions avec 200 ml de glycérol		Extractions avec 200 ml d'huile	
	X (µg)	CV (%)	X (µg)	CV (%)	X (µg)	CV (%)
<u>HYDROCARBURES</u>						
α-pinène	0,1	173	2,8	43	4,8	11
Myrcène	-	-	-	-	2,1	12
p-Cymène	-	-	-	-	0,6	29
β-phéllandrène	-	-	4,1	27	3,9	6
Caryophyllène	0,7	56	1,4	38	3,9	22
α-humulène	n.d.	-	n.d.	n.d.	n.d.	-
<u>ESTERS</u>						
Acétate d'éthyle	n.d.	-	n.d.	n.d.	n.d.	-
Acétate d'isoamyle	-	-	0,9	40	1,9	34
Acétate d'isopentényle	30,7	69	42	19	42	28
Hexanoate d'éthyle	2,7	79	5,2	20	4,6	19
Acétate de cis hexen-3-yle-1	5,7	50	7	10	8,7	24
Hydroxy-5 octanoate d'éthyle	n.d.	-	n.d.	-	n.d.	-
Acétate de mentyle	60	45	72	10	72	37
Hydroxy-5 décanoate d'éthyle	n.d.	-	n.d.	-	n.d.	-
<u>ALDÉHYDES</u>						
Pentanal	n.d.	-	n.d.	-	n.d.	-
Hexanal	253	33	270,5	31	229,8	38
Heptanal	2,9	51	4,6	13	9	11
Benzaldéhyde	-	-	-	-	2,9	12
Octanal	3,4	61	4	9	5,5	36
Nonanal	20	39	37	19	31	27
Décanal	n.d.	-	n.d.	-	n.d.	-
Céranial	n.d.	-	n.d.	-	n.d.	-
Nonadien-2,4 al	n.d.	-	n.d.	-	n.d.	-

Tableau 12 (suite)

CESTRES

Heptanone-2	5,8	61	10,2	16	7,9	13
Cyclohexanone	n.d.		n.d.		n.d.	
Nonanone-2	n.d.		n.d.		n.d.	
Dihydro α -ionone	3,1	19	3,8	21	3,3	24
α -ionone	46	39	57,6	3	46	23
β -ionone	76,5	45	87	3	82	20
Gingéron	21,2	29	21,6	22	19	19

ALCOOLS

Pentanol	n.d.		n.d.		n.d.	
Méthyl-3 butanol	n.d.		n.d.		n.d.	
Méthyl-3 buten-2	n.d.		n.d.		n.d.	
ol-1						
cis hexen-3 ol-1	17,5	41	19	8	12,4	33
Hexanol	4,4	39	8,3	13	6,9	21
Heptanol-2	23,4	42	36	18	29	6
Heptanol	2,8	45	3,6	18	3	27
Octanol	3	53	4,3	9	3,6	17
Linalol	44,2	49	61,6	7	56,7	31
Phényl-2 éthanol	15	3	20	25	11	27
Menthénol	n.d.		n.d.		n.d.	
Nonanol	n.d.		n.d.		n.d.	
Terpinen-4 ol	24,6	37	39,4	14	30	11
p-cymen-8 ol	-		6,2	13	2,9	33
α -terpineol	13,4	44	20,4	9	18	15
Myrténol	0,6	39	1,1	16	1	25
Pipérol	1,5	44	1,9	27	2,1	18
Pipérol	25,3	40	35,4	16	27	5
Nérol	700,2	5	941,2	18	716,1	27
Céranol						

LACTONES

γ -butyrolactone	n.d.	n.d.	n.d.		n.d.	
γ -hexalactone	41,3	28	51,5	16	34	7
γ -octalactone	5,1	49	18	29	12	31
δ -octalactone	117,2	15	323,3	30	213	51
ϵ -nonalactone	5,9	41	7,3	20	5,5	22
δ -decalactone	135,6	6	316	18	302,5	37
Dihydroactinidiolide	n.d.	n.d.	n.d.		n.d.	

ESTERS

Cincole	2,6	20	4	14	5,5	79
---------	-----	----	---	----	-----	----

X = moyenne des quantités obtenues

CV = coefficient de variation

n.d. = composé non dosé

FEUILLE DE REMPLACEMENT

En partant de 2 kg de framboises, on ne récupère dans le témoin qu'une partie des hydrocarbures, principalement la caryophyllène.

5 Dans le glycérol et l'huile, on obtient de meilleurs rendements pour ces composés. Pour le glycérol, les taux de récupération avec 2 kg de framboises sont
10 meilleurs qu'avec 800 g, alors qu'avec l'huile les rendements entre les deux expériences évoluent peu. Pour les esters, les deux milieux de piégeage sont comparables. Les teneurs en acétate d'isopentyle et en acétate de
15 menthyle augmentent énormément, plus que ne pouvait le laisser prévoir l'augmentation de la charge en jus de framboise.

En ce qui concerne les aldéhydes, l'évolution
15 reste comparable à celle obtenue précédemment, à savoir une meilleure rétention de ces composés dans le glycérol et des rendements inférieurs au témoin avec l'huile. Le benzaldéhyde n'est retenu dans le séparateur que par
20 l'huile.

Les cétones présentent une amélioration, mais
20 celle-ci est moins importante que celle obtenue à partir des 800 g de framboises. La meilleure récupération des α et β -ionones dans le témoin explique en grande partie la chute des gains observés.

25 En revanche, pour les alcools, l'amélioration est plus importante à partir de 2 kg de framboises qu'avec 800 g et ce résultat tient essentiellement à un enrichissement des extraits en géraniol, linalol et terpinène-4 ol, surtout en présence de glycérol.

30 Pour les lactones, les taux de récupération s'élèvent énormément en présence d'huile ou de glycérol et cela est dû aux teneurs en δ -décylactone qui ont doublé en présence de milieux de piégeage.

35 b) Fraction dichlorométhane. (Tableau 14) :

Tableau 14 : Extraction au CO₂ supercritique (P = 150 bars
et T = 36°C) du jus de framboise.
Constituants volatils noutres identifiés.

COMPOSES	témoin		Extractions avec 200 ml de glycérol		Extractions avec 200 ml d'huile	
	X (µg)	CV (%)	X (µg)	CV (%)	X (µg)	CV (%)
<u>ESTERS</u>						
Acétate de mentyle	n.d.		n.d.		n.d.	
<u>ALDEHYDES</u>						
Hexanal	1,9	63	2,8	9	2,2	65
Heptanal	n.d.		n.d.		n.d.	
Nonanal	8	15	12	25	5	18
Nonadien-2,4 al	n.d.		n.d.		n.d.	
<u>CETONES</u>						
α-ionone	1,5	23	0,8	30	2,1	44
β-ionone	1,3	65	6,5	52	2,1	10
Frambinone	35,1	43	64,4	20	40	48
Gingérone	8,9	42	25,2	5	11	10
<u>ALCOOLS</u>						
Methyl-3 buten-2 ol-1	n.d.		n.d.		n.d.	
cis hexen-3 ol-1	2,5	33	9,7	16	8,9	19
Hexanol	-	-	-	-	1,5	40
Alcool benzylque	0,3	15	6,1	21	4,5	19
Phényl-2 éthanol	0,7	48	3,9	25	3	27
Géranol	0,5	40	1,3	7	9,8	35
<u>LACTONES</u>						
γ-butyrolactone	0,7	34	6,5	27	1,5	20
γ-hexalactone	17,7	35	59	26	39,3	21
δ-octalactone	n.d.		n.d.		n.d.	
δ-decalactone	0,6	20	12,5	35	6,6	14

X = moyenne des quantités obtenues

CV = coefficient de variation

n.d. = composé non dosé

FEUILLE DE REMPLACEMENT

Dans la fraction dichlorométhane, la teneur des extraits en frambinone augmente nettement en présence de milieux de piégeage, particulièrement avec le glycérol. L'alcool benzylique et le phényl-2 éthanol sont également mieux récupérés avec le glycérol ou l'huile dans le séparateur.

Le Tableau 12 met en évidence une évolution des gains. Lorsque la charge en jus de framboise augmente, on observe une amélioration plus importante pour les composés polaires (lactones et alcools) et une baisse sensible des gains obtenus pour les cétones en présence de glycérol et de l'huile.

En présence de β -cyclodextrines (β -CD)

Conformément au protocole expérimental, les β -CD dans lesquelles sont inclus les composés volatils de framboise ont été extraites d'abord par le Forane 11, puis par le dichlorométhane. L'extraction par le Forane 11 n'a donné que des résultats quantitativement moyens. Les deux extraits ont été par la suite réunis. Ce regroupement permet de réduire le nombre d'analyse et d'améliorer la précision du dosage des pics en CPG.

Les résultats obtenus sont représentés dans le Tableau 15.

Tableau 15 : Extraction au CO₂ supercritique (P = 150 bars et T = 35°C) du jus de framboise en présence de β-cyclodextrines.
Constituants volatils neutres identifiés.

COMPOSES	témoin		Extraction avec 10 g de β-CD	
	X (µg)	CV (%)	X (µg)	CV (%)
<u>HYDROCARBURES</u>				
Diméthyl-1,3 benzène	-	-	2,6	10
α-pinène	30,5	64	80	14
Camphène	39,4	94	96	18
p-Cymène	8,4	53	15	-
Limonène	-	-	2,9	30
γ-terpinène	11,6	46	31	19
Carvophyllène*	30,7	37	40	20
<u>ESTERS</u>				
Acétate d'éthyle	n.d.	-	n.d.	-
Acétate d'isopentényle	37,8	47	38	25
Hexanoate d'éthyle	3,3	53	13	22
Acétate de cis-hexen-3-yl-1	32	29	47	17
Acétate d'hexyle	16,7	38	22	11
Hydroxy-5 octanoate d'éthyle	2,5	41	2	0
Acétate de mentyle*	46,4	31	50	14
Hydroxy-5 décanoate d'éthyle	9,8	33	9,5	31
<u>ALDÉHYDES</u>				
Pentanal	n.d.	-	n.d.	-
Hexanal	51,6	44	38	24
trans-hexen-2 al	19	25	2	0
Heptanal	n.d.	-	n.d.	-
Benzaldéhyde	-	-	0,8	38
Octanal	6,8	45	13	24
Nonanal	18,3	22	6,5	9
Décanal	n.d.	-	n.d.	-
Céranial*	3,4	35	4,4	0

FEUILLE DE REMPLACEMENT

Tableau 15 (suite)

CETONES

Heptanone-2	12,8	29	18	16
Cyclohexanone	3,5	35	-	-
Méthyl-6 hepten-5 one-2	2,8	28	-	-
α -ionone*	66,4	35	84	13
β -ionone*	88	42	106	27
Frambinone	22	19	3,5	38
Gingéron	30	12	4,3	6

ALCOOLS

Pentanol	n.d.		n.d.	
Méthyl-3 butanol	n.d.		n.d.	
Méthyl-3 buten-2 ol-1	n.d.		n.d.	
cis-hexen-3 ol-1	103,3	49	19	35
Hexanol	64,7	30	26,5	24
Heptanol-2	25	45	8,4	26
Alcool benzylique	n.d.		n.d.	
Octanol	13,7	18	2	30
Linalol	136,9	26	115	9
Phényl-2 éthanol	-	-	1	30
Menthénol	12,3	17	5,2	10
Terpinen-4 ol*	27	17	25,4	5
p-cymen-8 ol*	7,4	53	1,7	30
α -terpineol*	17,4	42	9,8	20
Myrténol*	-	-	1,6	8
Nérol*	27,9	47	19	20
Géranol*	723,6	17	560	7
Dihydro β -ionol	9,7	28	5,6	6

LACTONES

γ -butyrolactone	34,1	55	-	
γ -hexalactone	67,1	25	3,9	40
γ -octalactone	1,6	46	-	
δ -octalactone	265,6	38	90	24
δ -decalactone	302,9	39	185	21
Dihydroactinidiolide	4,2	60	4,5	32

ETHERS

Cinéole	48,7	45	53	22
Théaspirane	1,9	72	2,9	5

X = moyenne des quantités obtenues

CV = coefficient de variation

n.d. = composé non dosé

FEUILLE DE REMPLACEMENT

L'analyse des chromatogrammes a permis de mettre en évidence deux groupes de composés : un premier groupe, dont les quantités récupérées dans les β -CD sont supérieures à celles de ces mêmes composés chez le témoin et un deuxième groupe de composés dont les quantités récupérées dans les β -CD sont inférieures à celles du témoin. Dans ce deuxième groupe, on a procédé à des mesures de coefficients d'extraction (entre le solvant et les β -CD) sur certains composés (que l'on ne retrouve pas du reste dans le surnageant.)

Les quantités corrigées obtenues pour ces composés sont plus proches de la réalité et sont signalées par des astérisques dans le Tableau 15.

En ce qui concerne la classe chimique des hydrocarbures, les résultats obtenus sont probants. Pour les monoterpènes, les quantités sont multipliées par 2, quant au caryophyllène, son augmentation est également importante.

On constate aussi la présence de limonène. Les β -CD peuvent au moins en partie retenir ce composé qui par son odeur de citron agréable et son seuil de perception très bas (1 ppb) peut modifier la qualité odorante de l'extrait.

La présence de telles quantités d'hydrocarbures dans le témoin peut s'expliquer par une différence d'ensoleillement et de pluviométrie entre les années de récoltes.

Il y a également présence de *m*-xylène dans l'extrait récupéré avec les β -cyclodextrines. Dans la classe chimique des esters, l'apport des β -CD paraît bénéfique pour la plupart des composés bien que les gains observés n'atteignent pas ceux obtenus pour les hydrocarbures. Les deux esters pour lesquels l'apport des β -CD est négatif sont l'hydroxy-5 octanoate d'éthyle et l'hydroxy-5 décanoate d'éthyle, tous deux ayant un groupement hydroxyle dans leur structure. Pour les aldéhydes, les β -CD ne semblent pas adaptées. La plupart

FEUILLE DE REMPLACEMENT

des composés ont des rendements inférieurs à ceux du témoin. Les aldéhydes qui font exception à cette remarque sont l'octanal, le benzaldéhyde et le géraniol. Le géraniol possède un seuil de perception très bas 3×10^{-6} ppm et participe à l'arôme de la framboise. Quant au benzaldéhyde, la plupart des composés, qui comme lui, possèdent un noyau benzénique peuvent aisément former des complexes avec les β -CD (phényl-2 éthanol, m-xylène, etc...). La variété «Rose de Côte d'Or» est riche en α et β -ionones, composés qui participent à l'arôme de framboise. Tant l' α -ionone que la β -ionone sont retenues de façon importante par les β -CD. A l'opposé, la frambinone et la gingérone ne sont que modérément retenues par les β -CD, l'essentiel de ces composés se trouve dans le surnageant hydroalcoolique. Les composés quantitativement majeurs de l'arôme de framboise sont le géraniol et la δ -décylactone qui font partie des classes chimiques (respectivement les alcools et les lactones) les moins fortement retenues par les β -CD. En raison de cette sélectivité, l'extrait β -CD apparaît clairement comme ayant une odeur de framboise plus typée que le témoin. Cette observation peut être corrélée aux données chromatographiques qui montrent que les β -CD favorisent la récupération de plusieurs composés volatils dont certains qui sont présents dans le fruit à l'état de trace. Certains de ces composés, ayant des seuils de perception suffisamment bas, peuvent participer à l'arôme de framboise. Par ailleurs, l'extrait β -CD maintient un meilleur équilibre entre les composés. C'est ainsi que les proportions en alcools terpéniques et en δ -décylactone sont réduites et induisent une déformation plus limitée de l'arôme du fruit. Par ailleurs, des résultats corroborant ceux rapportés ci-dessus ont été obtenus avec le matériel n°1.

REVENDEICATIONS

- 1 - Procédé d'extraction au dioxyde de carbone supercritique des composés volatils d'un matériel de départ, suivant lequel on conduit une percolation du gaz supercritique à travers ledit matériel de départ, le dioxyde de carbone se chargeant en composés extractibles, puis lorsque la pression de percolation atteint une valeur prédéterminée, on effectue une détente du milieu de percolation, en amenant ce dernier dans une zone de séparation dans laquelle les composés volatils sont piégés dans la carboglace formée, les composés volatils étant récupérés en solution aqueuse, après sublimation du CO_2 , caractérisé par le fait que l'extraction est conduite, dans la zone de séparation, en présence d'un milieu de piégeage, lequel est apte à retenir lesdits composés volatils.
- 2 - Procédé selon la revendication 1, caractérisé par le fait qu'on choisit un milieu de piégeage très peu soluble dans le CO_2 liquide ou supercritique et ayant une aptitude à dissoudre ou à complexer les composés volatils du matériel de départ.
- 3 - Procédé selon la revendication 2, caractérisé par le fait qu'on choisit un milieu de piégeage capable de dissoudre les composés volatils.
- 4 - Procédé selon la revendication 2, caractérisé par le fait qu'on choisit un milieu de piégeage apte à complexer les composés volatils du matériel de départ.
- 5 - Procédé selon l'une des revendications 1 à 4, caractérisé par le fait qu'on choisit, comme milieu de piégeage, un milieu directement utilisable dans le domaine agro-alimentaire.
- 6 - Procédé selon l'une des revendications 3 et 5, caractérisé par le fait qu'on choisit, comme milieu de piégeage, le glycérol ou une huile alimentaire.
- 7 - Procédé selon la revendication 6, caractérisé par le fait qu'on introduit le milieu de piégeage à raison de 1 à 10% en poids par rapport au matériel de départ.

FEUILLE DE REMPLACEMENT

8 - Procédé selon l'une des revendications 4 et 5, caractérisé par le fait qu'on choisit, comme milieu de piégeage, une cyclodextrine, notamment la β -cyclodextrine.

5 9 - Procédé selon la revendication 8, caractérisé par le fait qu'on introduit le milieu de piégeage à raison de 0,05 à 0,5% en poids par rapport au matériel de départ.

10 10 - Procédé selon l'une des revendications 1 à 9, caractérisé par le fait qu'on travaille sur un matériel de départ choisi parmi les matériels contenant des produits volatils et dont la teneur en lipides n'est pas excessivement élevée.

15 11 - Procédé selon la revendication 10, caractérisé par le fait qu'on choisit les matériels de départ, parmi les fruits et produits dérivés, et les matériels végétaux non gras et contenant des huiles essentielles.

12 - Milieu de piégeage ayant retenu les composés volatils, tel qu'il est obtenu par le procédé selon l'une des revendications 1 à 11.

20 13 - Composés volatils obtenus après séparation du milieu de piégeage résultant du procédé tel que défini à l'une des revendications 1 à 11.

25 14 - Application du milieu et des composés tels que définis aux revendications respectivement 12 et 13, comme arômes, notamment en industrie agro-alimentaire.

30

35

8 - Procédé selon l'une des revendications 4 et 5, caractérisé par le fait qu'on choisit, comme milieu de piégeage, une cyclodextrine, notamment la β -cyclodextrine.

5 9 - Procédé selon la revendication 8, caractérisé par le fait qu'on introduit le milieu de piégeage à raison de 0,05 à 0,5% en poids par rapport au matériel de départ.

10 10 - Procédé selon l'une des revendications 1 à 9, caractérisé par le fait qu'on travaille sur un matériel de départ choisi parmi les matériels contenant des produits volatils et dont la teneur en lipides n'est pas excessivement élevée.

15 11 - Procédé selon la revendication 10, caractérisé par le fait qu'on choisit les matériels de départ, parmi les fruits et produits dérivés, et les matériels végétaux non gras et contenant des huiles essentielles.

12 - Milieu de piégeage ayant retenu les composés volatils, tel qu'il est obtenu par le procédé selon l'une des revendications 1 à 11.

20 13 - Composés volatils obtenus après séparation du milieu de piégeage résultant du procédé tel que défini à l'une des revendications 1 à 11.

25 14 - Application du milieu et des composés tels que définis aux revendications respectivement 12 et 13, comme arômes, notamment en industrie agro-alimentaire.

30

35

FEUILLE DE REMPLACEMENT

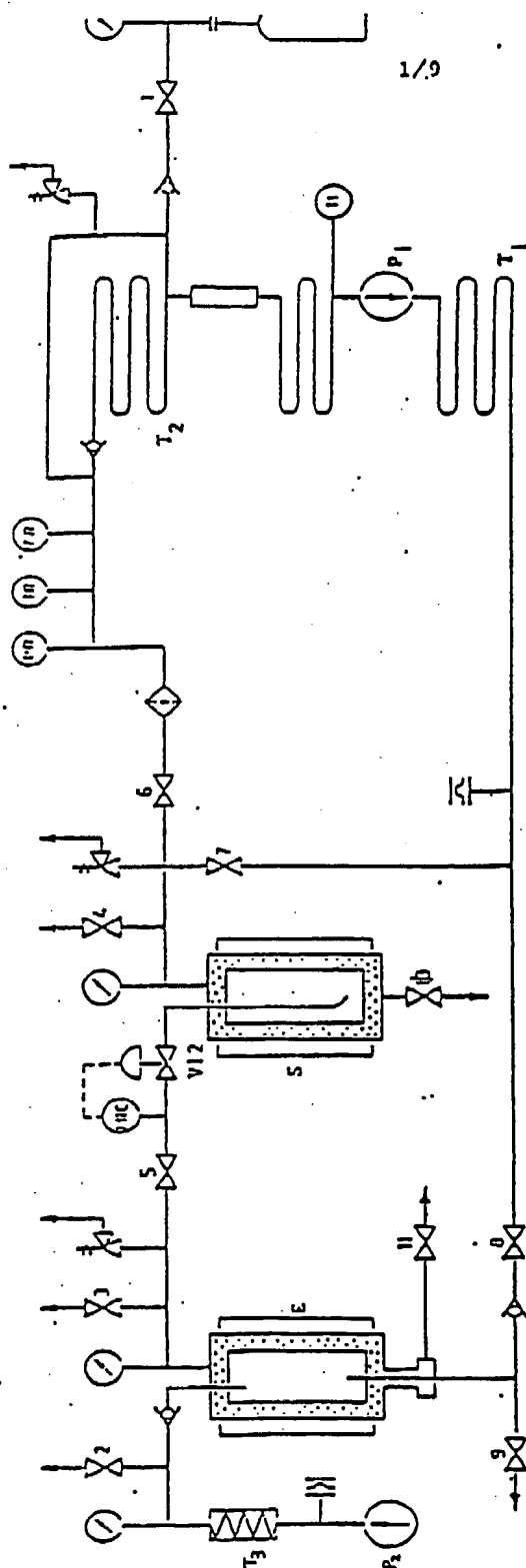
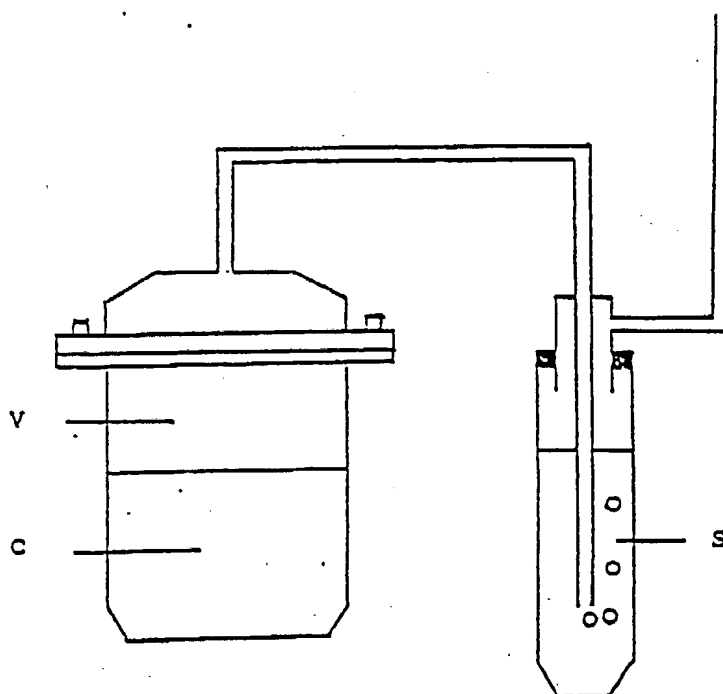


Fig. 1

FEUILLE DE REMPLACEMENT

2/9

Fig. 2



FEUILLE DE REMPLACEMENT

3/9

Fig. 3

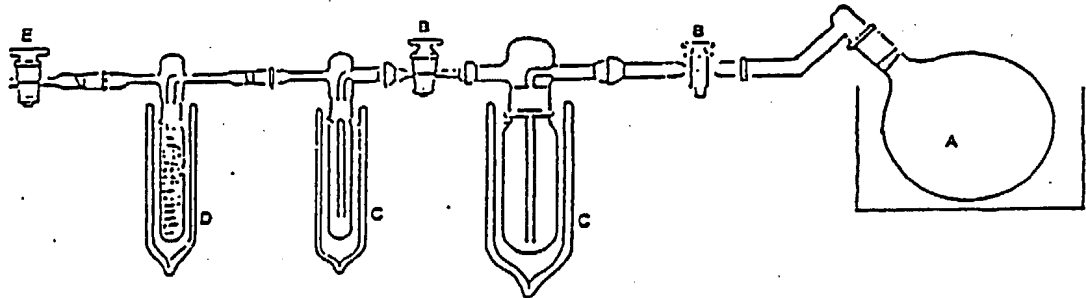
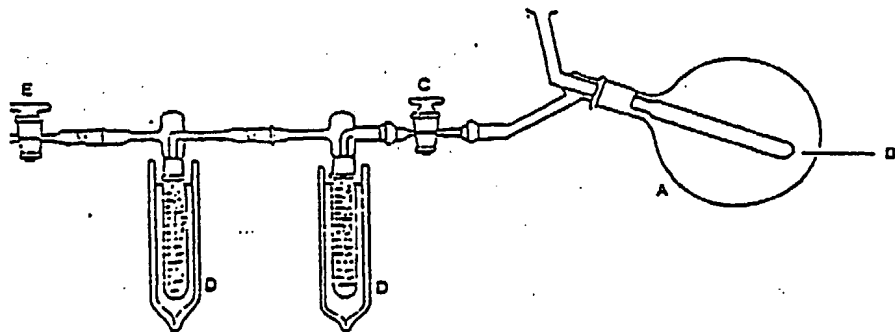


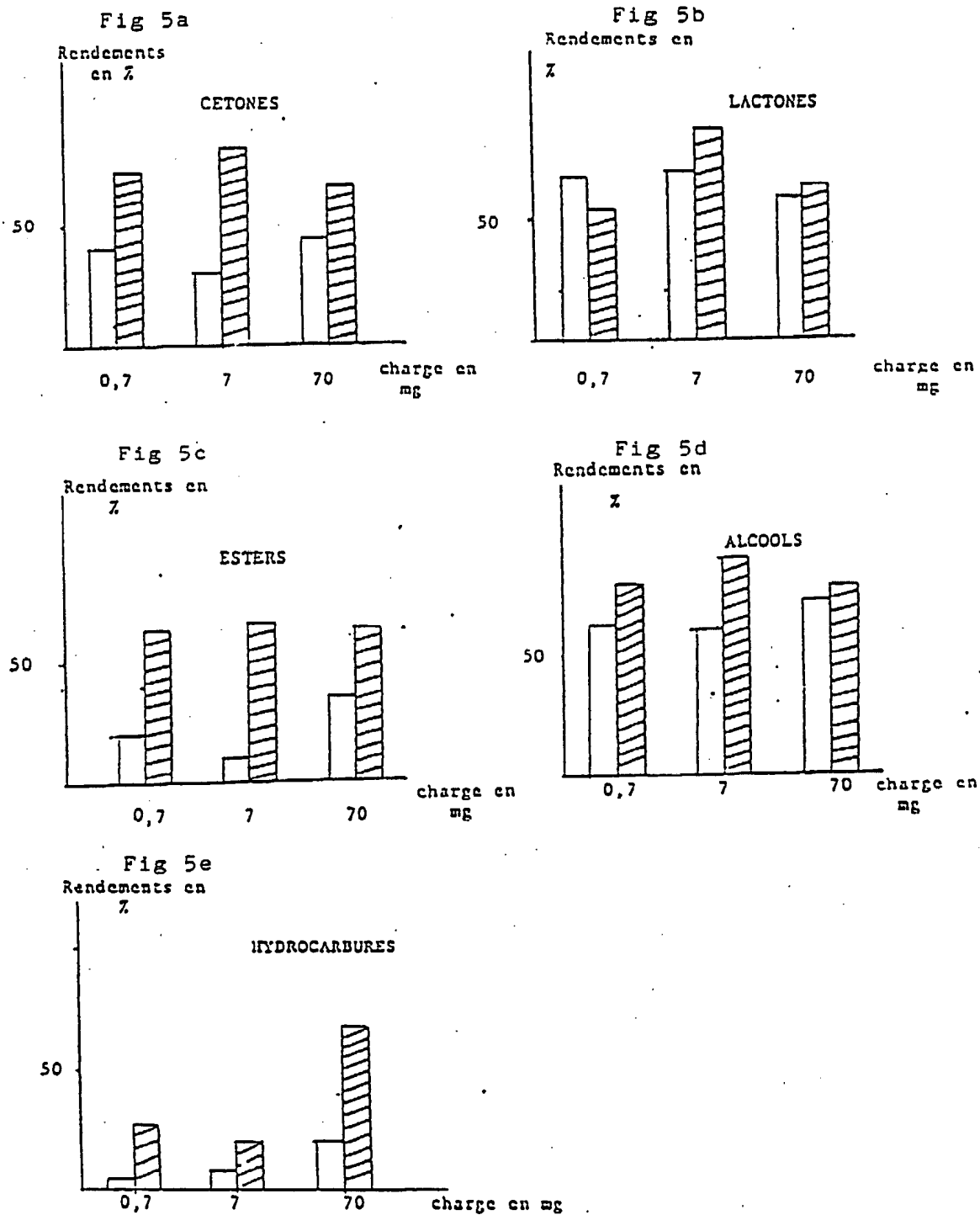
Fig. 4



FEUILLE DE REMPLACEMENT

4/9

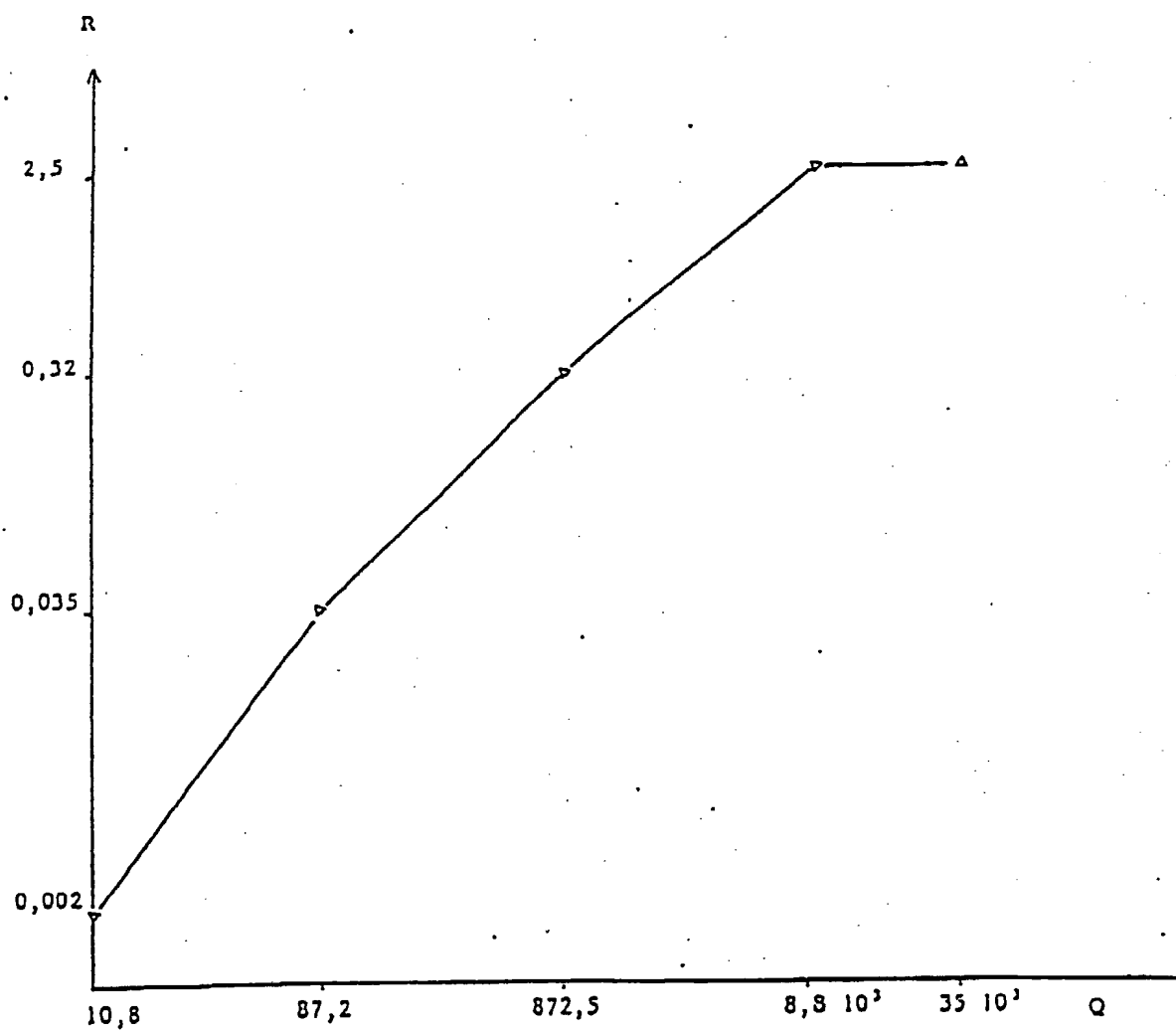
Fig. 5



FEUILLE DE REMPLACEMENT

5/9

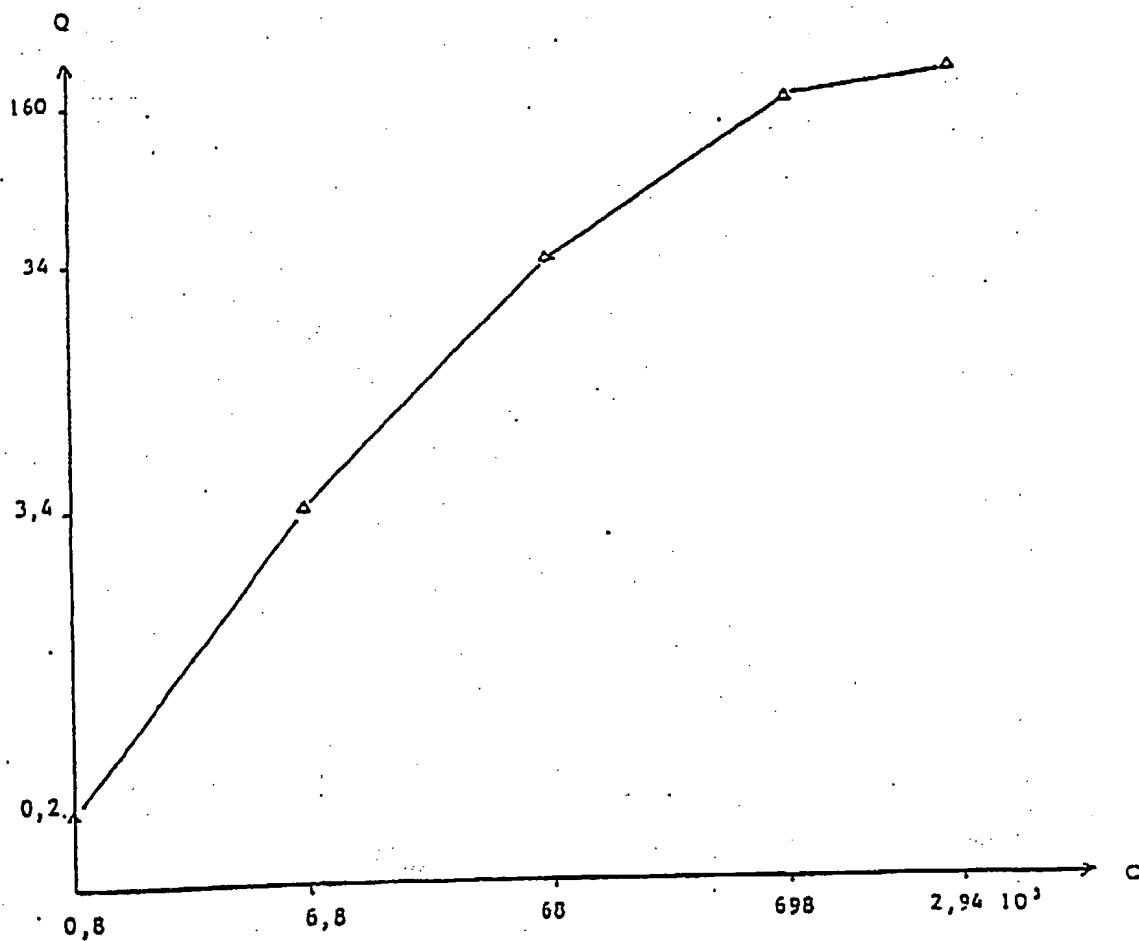
Fig. 6



FEUILLE DE REMPLACEMENT

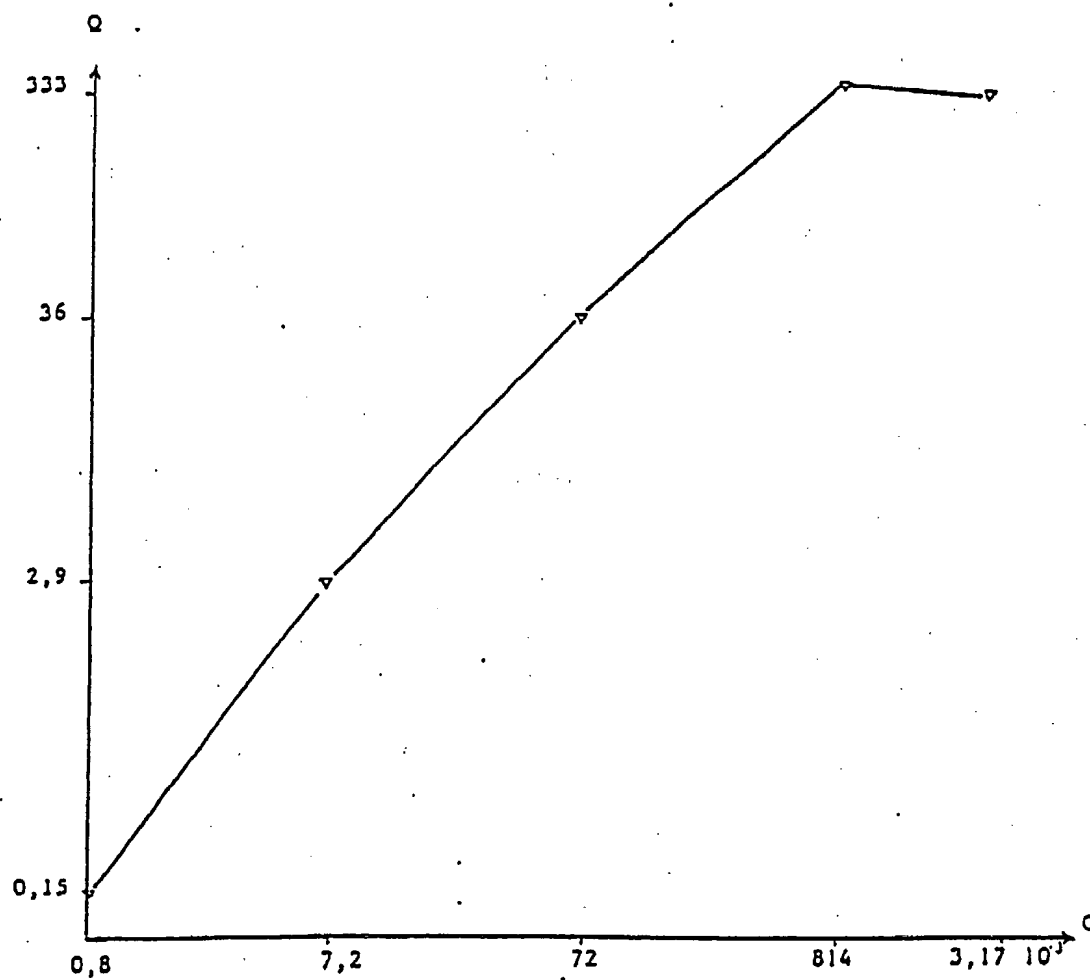
6/9

Fig. 7

**FEUILLE DE REMPLACEMENT**

7/9

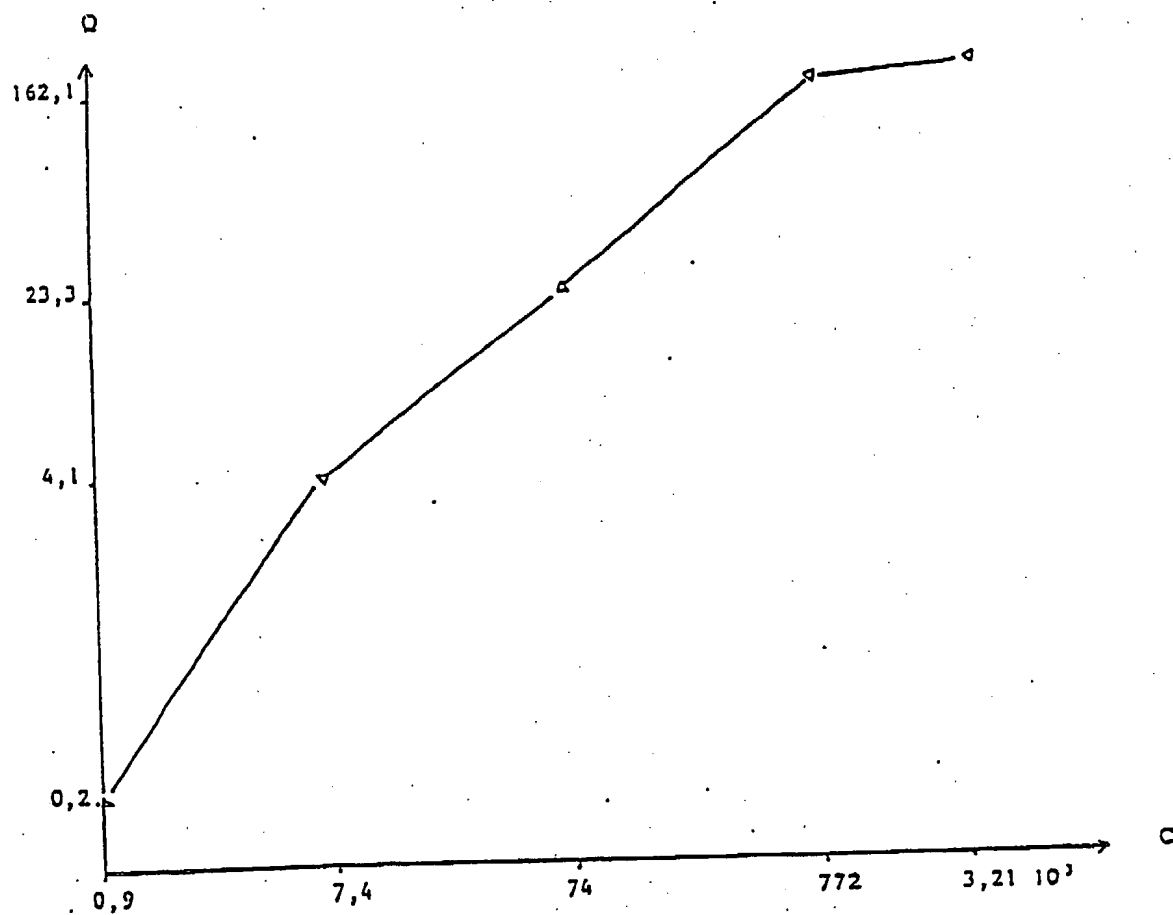
Fig. 8



FEUILLE DE REMPLACEMENT

8/9

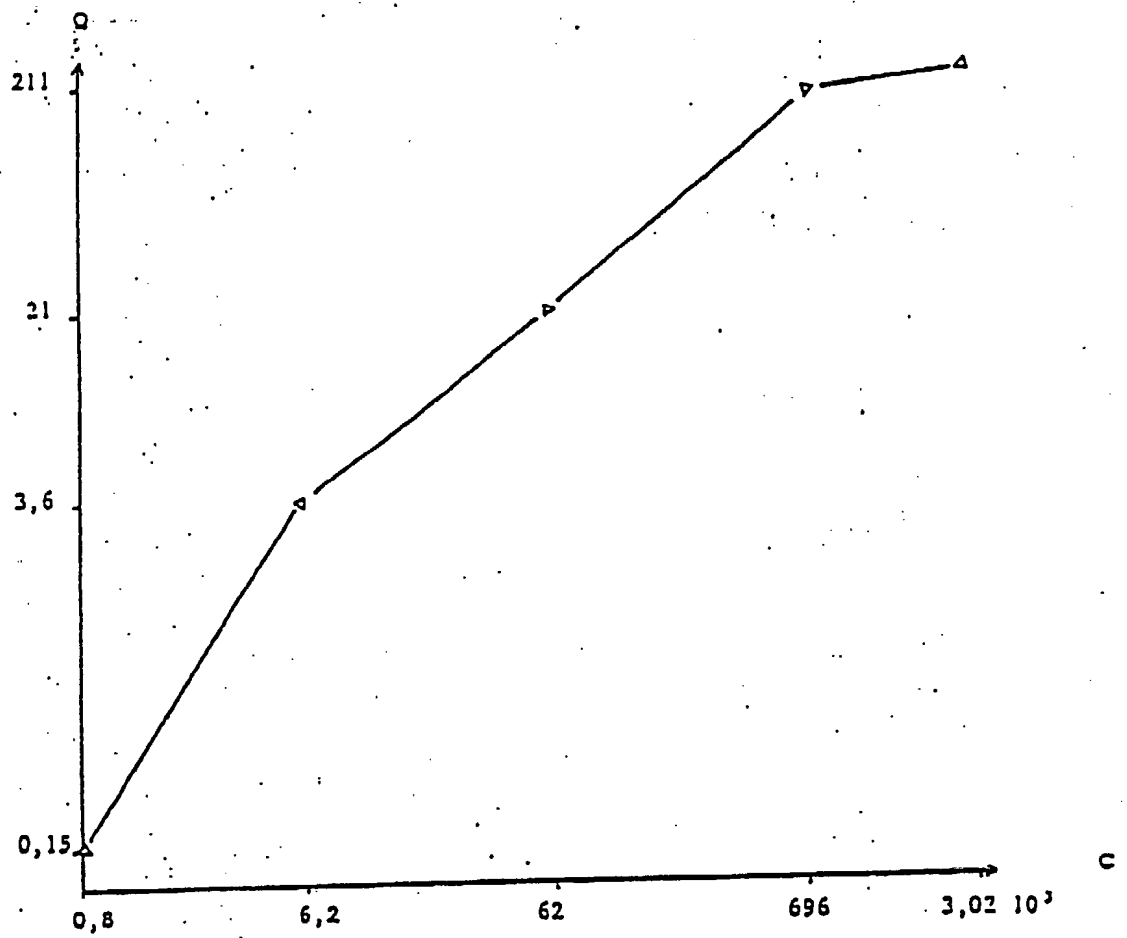
Fig. 9



FEUILLE DE REMPLACEMENT

9/9

Fig. 10



FEUILLE DE REMPLACEMENT

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No PCT/FR 89/00158

I. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER (If several classification symbols apply, indicate all) *		
According to International Patent Classification (IPC) or to both National Classification and IPC		
Int.Cl ⁴ : B 01 D 11/02		
II. FIELDS SEARCHED		
Minimum Documentation Searched *		
Classification System I	Classification Symbols	
Int.Cl ⁴	A 23 F 5/20, A 23 F 5/22, A 23 L 1/221, B 01 D 11/00, B 01 D 11/02, B 01 D 11/04 C 11 B 1/10, C 11 B 7/00	
Documentation Searched other than Minimum Documentation to the Extent that such Documents are included in the Fields Searched *		
III. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT *		
Category *	Citation of Document, ** with indication, where appropriate, of the relevant passages **	Relevant to Claim No. **
A	EP,A1,0010665 (HAG) 14 May 1980, see claims 1-3; page 3, line 22 - page 4, line 4; page 4, lines 6-15, 17-28	1,5,6,10, 11,14
A	EP,A2,0234932 (SUNTORY) 02 September 1987, see claims 1,4,7-9	1-3,5,6,8,10, 12
A	DE,A1,2727191 (HAG) 21 December 1978, see claims 1-3, 7,8; page 7, paragraph 2	1-6
A	DE,B2,2106133 (STUDIENGESELLSCHAFT KOHLE) 13 April 1978, see claims; column 2, lines 23-24	1-5,10-14
A	EP,A1,0062893 (HENKEL) 20 October 1982, see claims 1-3,7	1-5,8,10-14
A	GB,A,2081065 (SATO SHOKUJIN KOGYO K.K.) 17 February 1982, see claim 1	1,3-5,8,10, 11,14
A	Patent Abstracts of Japan, Vol.9, No.112, 16 May 1985, page 131 C 281 & JP,A,606174 (HASEGAWA KORYO K.K.) 12 January 1985	8
A	DE,A,1929059 (O.KUNZ) 18 December 1969, see claim 1	6
<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div style="width: 45%;"> <p>* Special categories of cited documents: 10</p> <p>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>"E" earlier document but published on or after the international filing date</p> <p>"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</p> <p>"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p> </div> <div style="width: 45%;"> <p>"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</p> <p>"X" document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step</p> <p>"Y" document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.</p> <p>"&" document member of the same patent family</p> </div> </div>		
IV. CERTIFICATION		
Date of the Actual Completion of the International Search	Date of Mailing of this International Search Report	
16 June 1989 (16.06.89)	19 July 1989 (19.07.89)	
International Searching Authority	Signature of Authorized Officer	
EUROPEAN PATENT OFFICE		

**ANNEX TO THE INTERNATIONAL SEARCH REPORT
ON INTERNATIONAL PATENT APPLICATION NO.**

FR 8900158
SA 28113

This annex lists the patent family members relating to the patent documents cited in the above-mentioned international search report. The members are as contained in the European Patent Office EDP file on 12/07/89. The European Patent Office is in no way liable for these particulars which are merely given for the purpose of information.

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP-A- 0010665	14-05-80	DE-A- 2844781	24-04-80
		AT-T- 413	15-12-81
		CA-A- 1130988	07-09-82
		JP-A- 55054003	21-04-80
EP-A- 0234932	02-09-87	JP-A- 62201828	05-09-87
DE-A- 2727191	21-12-78	AT-B- 359814	10-12-80
		BE-A- 868203	16-10-78
		CA-A- 1109324	22-09-81
		CH-A- 634202	31-01-83
		FR-A, B 2394547	12-01-79
		GB-A- 1596364	26-08-81
		JP-A- 54036299	16-03-79
		LU-A- 79810	20-07-79
		NL-A- 7806406	19-12-78
		US-A- 4255458	10-03-81
DE-B- 2106133	31-08-72	DE-A, B, C 2106133	31-08-72
		AT-B- 321086	10-03-75
		BE-A- 778292	20-07-72
		CH-A- 568019	31-10-75
		FR-A, B 2124358	22-09-72
		NL-A- 7201574	14-08-72
		SE-B- 377651	21-07-75
		US-A- 4328255	04-05-82
EP-A- 0062893	20-10-82	DE-A- 3115157	11-11-82
GB-A- 2081065	17-02-82	JP-A- 57118756	23-07-82
		JP-A- 57033545	23-02-82
		AU-B- 544564	06-06-85
		AU-A- 7305181	23-09-82
		CA-A- 1173288	28-08-84
		CH-B- 648991	30-04-85
		FR-A, B 2488106	12-02-82
		US-A- 4560571	24-12-85
		US-A- 4474822	02-10-84

ANNEX TO THE INTERNATIONAL SEARCH REPORT
ON INTERNATIONAL PATENT APPLICATION NO.FR 8900158
SA 28113

This annex lists the patent family members relating to the patent documents cited in the above-mentioned international search report. The members are as contained in the European Patent Office EDP file on 12/07/89. The European Patent Office is in no way liable for these particulars which are merely given for the purpose of information.

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
DE-A- 1929059	18-12-69	CH-A- 490809	31-05-70
		FR-A- 2011936	13-03-70
		GB-A- 1237042	30-06-71

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale N° PCT/FR 89/00158

I. CLASSEMENT DE L'INVENTION (si plusieurs symboles de classification sont applicables, les indiquer tous) ⁷		
Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB CIB⁴: B 01 D 11/02		
II. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE		
Documentation minimale consultée ⁸		
Système de classification	Symboles de classification	
CIB⁴	A 23 F 5/20, A 23 F 5/22, A 23 L 1/221, B 01 D 11/00, B 01 D 11/02, B 01 D 11/04, C 11 B 1/10, C 11 B 7/00	
Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où de tels documents font partie des domaines sur lesquels la recherche a porté ⁹		
III. DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS ¹⁰		
Catégorie *	Identification des documents cités, ¹¹ avec indication, si nécessaire, des passages pertinents ¹²	N° des revendications visées ¹³
A	EP, A1, 0010665 (HAG) 14 mai 1980 voir revendications 1-3; page 3, ligne 22 - page 4, ligne 4; page 4, lignes 6-15, 17-28 --	1, 5, 6, 10, 11, 14
A	EP, A2, 0234932 (SUNTORY) 2 septembre 1987 voir revendications 1, 4, 7-9 --	1-3, 5, 6, 8, 10, 12
A	DE, A1, 2727191 (HAG) 21 décembre 1978 voir revendications 1-3, 7, 8; page 7, alinéa 2 --	1-6
A	DE, B2, 2106133 (STUDIENGESELLSCHAFT KOHLE) 13 avril 1978 voir revendications; colonne 2, lignes 23-24 --	1-5, 10-14
./.		
<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div style="width: 45%;"> <p>* Catégories spéciales :</p> <p>« A » document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent</p> <p>« E » document antérieur, publié à la date de dépôt international ou après cette date</p> <p>« L » document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)</p> <p>« O » document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens</p> <p>« P » document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée</p> </div> <div style="width: 45%;"> <p>« T » document ultérieur publié postérieurement à la date de dépôt international ou à la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention</p> <p>« X » document particulièrement pertinent: l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive</p> <p>« Y » document particulièrement pertinent: l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier.</p> <p>« & » document qui fait partie de la même famille de brevets</p> </div> </div>		
IV. CERTIFICATION		
Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée 16 juin 1989		Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale 19 JUL. 1989
Administration chargée de la recherche internationale OFFICE EUROPEEN DES BREVETS		Signature du fonctionnaire autorisé P.C.S. VAN DER PUTTEN

III. DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS		
(SUITE DES RENSEIGNEMENTS INDICUÉS SUR LA DEUXIÈME FEUILLE)		
Catégorie *	Identification des documents cités, avec indication, si nécessaire, des passages pertinents	N° des revendications visées
A	EP, A1, 0062893 (HENKEL) 20 octobre 1982 voir revendications 1-3,7 --	1-5,8,10-14
A	GB, A, 2081065 (SATO SHOKUHIN KOGYO K.K.) 17 février 1982 voir revendication 1 --	1,3-5,8,10,11,14
A	Patent Abstracts of Japan, vol. 9, no. 112, 16 mai 1985, page 131 C 281, & JP, A, 606174 (HASEGAWA KORYO K.K.) 12 janvier 1985 --	8
A	DE, A, 1929059 (O. KUNZ) 18 décembre 1969 voir revendication 1 -----	6

**ANNEXE AU RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE
RELATIF A LA DEMANDE INTERNATIONALE NO.**

FR 8900158
SA 28113

La présente annexe indique les membres de la famille de brevets relatifs aux documents brevets cités dans le rapport de recherche internationale visé ci-dessus.
Lesdits membres sont contenus au fichier informatique de l'Office européen des brevets à la date du 12/07/89
Les renseignements fournis sont donnés à titre indicatif et n'engagent pas la responsabilité de l'Office européen des brevets.

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
EP-A- 0010665	14-05-80	DE-A- 2844781 AT-T- 413 CA-A- 1130988 JP-A- 55054003	24-04-80 15-12-81 07-09-82 21-04-80
EP-A- 0234932	02-09-87	JP-A- 62201828	05-09-87
DE-A- 2727191	21-12-78	AT-B- 359814 BE-A- 868203 CA-A- 1109324 CH-A- 634202 FR-A, B 2394547 GB-A- 1596364 JP-A- 54036299 LU-A- 79810 NL-A- 7806406 US-A- 4255458	10-12-80 16-10-78 22-09-81 31-01-83 12-01-79 26-08-81 16-03-79 20-07-79 19-12-78 10-03-81
DE-B- 2106133	31-08-72	DE-A, B, C 2106133 AT-B- 321086 BE-A- 778292 CH-A- 568019 FR-A, B 2124358 NL-A- 7201574 SE-B- 377651 US-A- 4328255	31-08-72 10-03-75 20-07-72 31-10-75 22-09-72 14-08-72 21-07-75 04-05-82
EP-A- 0062893	20-10-82	DE-A- 3115157	11-11-82
GB-A- 2081065	17-02-82	JP-A- 57118756 JP-A- 57033545 AU-B- 544564 AU-A- 7305181 CA-A- 1173288 CH-B- 648991 FR-A, B 2488106 US-A- 4560571 US-A- 4474822	23-07-82 23-02-82 06-06-85 23-09-82 28-08-84 30-04-85 12-02-82 24-12-85 02-10-84

EP- FORM P072

FR 8900158
SA 28113

La présente annexe indique les membres de la famille de brevets relatifs aux documents brevets cités dans le rapport de recherche internationale visé ci-dessus.

Lesdits membres sont contenus au fichier informatique de l'Office européen des brevets à la date du 12/07/89

Les renseignements fournis sont donnés à titre indicatif et n'engagent pas la responsabilité de l'Office européen des brevets.

EPO FORM 90472

RUCNNIN JWD 000083961 1

This Page is inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☒ BLACK BORDERS
- ☒ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☒ FADED TEXT OR DRAWING
- ☐ BLURED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☒ COLORED OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REPERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images
problems checked, please do not report the
problems to the IFW Image Problem Mailbox**